



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**CARATERIZAÇÃO DA MICRODUREZA DA SUPERFÍCIE DO
ESMALTE ERODIDO, ANTES E DEPOIS DA APLICAÇÃO DE UM
VERNIZ DE FLÚOR**

Trabalho submetido por
Marta Alexandra da Silva Guia
Para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

outubro de 2016



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

CARATERIZAÇÃO DA MICRODUREZA DA SUPERFÍCIE DO ESMALTE ERODIDO, ANTES E DEPOIS DA APLICAÇÃO DE UM VERNIZ DE FLÚOR

Trabalho submetido por
Marta Alexandra da Silva Guia
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof.^a Doutora Ana Cristina Manso
e coorientado por
Prof.^a Doutora Patrícia Maria Almeida Carvalho
Mestre Joana Do Carmo

outubro de 2016

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof. Doutora Ana Cristina Manso, por toda a ajuda, rigor, incentivo e ensino prestados ao longo destes anos e durante toda a realização da tese.

Às minhas co-orientadoras, Prof. Doutora Patrícia Carvalho e Mestre Joana Carmo, por todo o auxílio conferido durante a fase experimental do meu trabalho de investigação.

À Prof. Doutora Carla Ascenso pela ajuda dada na execução de toda a análise estatística.

Ao Prof. Doutor Mário Polido por ter dispensado o Laboratório de Biomateriais do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, que me proporcionou a realização de todo o meu trabalho de investigação.

Aos meus pais por me terem proporcionado a realização de todo o Curso.

À AE-ISCSEM que me apoiou durante 4 anos do meu percurso na Egas Moniz e ainda o permite hoje em dia, querendo agradecer em especial ao João, ao Rodrigo e ao Rui.

Por fim e não menos importante, aos meus amigos por todo o apoio prestado ao longo destes anos nesta grande caminhada, deixando um especial agradecimento ao André, Eduardo, Joana, Miguel e Milene.

RESUMO

Objetivos: Avaliar a capacidade remineralizadora da saliva artificial e do verniz de flúor através dos testes de microdureza de Vickers e da Microscopia Eletrônica de Varrimento (MEV).

Materiais e Métodos: 8 molares humanos, foram cortados no sentido axial em hemifaces e divididos aleatoriamente em 4 grupos: Grupo A (n=8), exposição a água desionizada; Grupo B (n=8), exposição a água desionizada e verniz de flúor; Grupo C (n=8), exposição a saliva artificial; Grupo D (n=8), exposição a saliva artificial e verniz de flúor. Todos os grupos foram sujeitos a uma exposição diária (3x20 minutos num intervalo de 2 horas e 40 minutos) de desmineralização com Redbull®, a 37°C e 30 rpm. Após cada um dos ciclos, os espécimes foram lavados com água desionizada e foi renovada a solução de exposição. 6 espécimes de cada grupo foram submetidos ao teste da Microdureza Vickers; os outros 2 espécimes de cada grupo, foram observados ao Microscópio Eletrônico de Varrimento, JEOL JSM 70001F. A análise estatística foi efetuada através de um teste ANOVA one-way e post hoc escolheu-se o teste de Bonferroni devido ao reduzido tamanho amostral. 95% Confidence Interval para um nível de significância de $p < 0.05$.

Resultados: Os valores médios obtidos para cada grupo (Grupo A – $502,63 \pm 50,24$ HV; Grupo A.1 – $577,43 \pm 43,36$ HV; Grupo B – $650,16 \pm 14,45$ HV; Grupo B.1 – $646,56 \pm 19,74$ HV; Grupo C – $436,12 \pm 40,84$) revelam um aumento da microdureza aquando da utilização de saliva artificial e verniz de flúor em comparação com o esmalte são. Foi observada uma desorganização na orientação dos prismas de esmalte no grupo A aquando da comparação com os restantes grupos, onde havia a utilização de saliva artificial e verniz de flúor.

Conclusões: Tanto o verniz de flúor como a saliva artificial aumentam a dureza do esmalte erodido.

Palavras-chave: erosão do esmalte, verniz de flúor, saliva artificial, microdureza de Vickers.

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the remineralizing capacity of the artificial saliva and fluoride varnish through Vickers Microhardness test and Scanning Electron Microscopy (SEM).

Materials and methods: 8 human molars were cut in the axial direction in hemifaces and randomly divided into 4 groups: group A (n = 8), exposure to deionized water; Group B (n = 8), exposure to deionized water and fluoride varnish; Group C (n = 8), exposure to artificial saliva; Group D (n = 8), exposure to artificial saliva and fluoride varnish. All groups were subjected to daily exposure (3x20 minutes in an interval of 2 hours and 40minutes) demineralization with Redbull®, at 37 and 30 rpm. After cycles, the specimens were rinsed with deionized water and the solution was renewed exposure. Six specimens from each group were analyzed with Vickers Microhardness tester; the other two specimens of each group were observed in the Electronic Microscope SEM, JEOL JSM 70001F. Statistical analysis was performed using a one-way ANOVA test and post hoc was chosen the Bonferroni test due to the small sample size. 95% Confidence Interval for p significance level of <0.05.

Results: The average values for each group (Group A - 502.63 ± 50.24 HV; A.1 Group - 577.43 ± 43.36 HV Group B - 650.16 ± 14.45 HV, Group B.1 - 646.56 ± 19.74 HV; Group C - 436.12 ± 40.84) show an increase in hardness when using artificial saliva and fluoride varnish compared with sound enamel. Disorganization was observed in the orientation of the enamel prisms in group A in comparison to the other groups, which was the use of artificial saliva and fluoride varnish.

Conclusions: Both fluoride varnish and artificial saliva increase the hardness of the eroded enamel.

Key words: enamel erosion, fluoride varnish, artificial saliva, Vickers microhardness.

ÍNDICE GERAL

RESUMO	1
ABSTRACT	3
ÍNDICE GERAL	5
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS.....	10
I. INTRODUÇÃO	12
A) Esmalte Humano	12
1- Constituição e Propriedades Químicas	12
2- Microestrutura.....	13
3- Anatomia de Superfície	14
4- Propriedades Mecânicas	14
5- Papel da saliva na proteção do esmalte.....	15
6- Papel dos agentes fluoretados na proteção do esmalte	15
B) Erosão do esmalte.....	17
1- Definição.....	17
2- Aspectos Químicos	17
3- Aspectos Histológicos	18
4- Classificação segundo os fatores etiológicos.....	18
9- Distribuição.....	26
10- Diagnóstico e Classificação	27
11- Prevenção e Remineralização das Lesões Erosivas	29
C) Teste de microdureza do esmalte.....	42
D) Pertinência do estudo.....	44
E) Objetivos.....	44
F) Hipóteses	44
II) MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
A) Desenho do estudo e local do estudo.....	45
B) Considerações éticas.....	46
C) Tipo de estudo e Seleção da amostra.....	46
1- Critérios de inclusão e de exclusão.....	46
D) Aleatorização da amostra.....	46

E) Preparação da amostra	46
F) Saliva Artificial-formulação	54
G) Verniz de Flúor-formulação	54
H) Caraterização da bebida com potencial erosivo	54
I) Grupos de estudo e Grupo controlo - Processo de desmineralização e remineralização	54
J) Análise da superfície do esmalte	59
1- Teste de Microdureza de Vickers	59
2- Observação ao Microscópio Eletrónico de Varrimento.....	60
K) Análise estatística	60
III) RESULTADOS	61
A) Microdureza de Vickers.....	61
B) Microscopia Eletrónica de Varrimento.....	66
DISCUSSÃO	75
CONCLUSÕES	81
BIBLIOGRAFIA	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Gráfico ilustrativo da Composição do Esmalte.	12
Figura 2- Fatores da erosão dentária.	Erro! Marcador não definido.
Figura 3- Imagens alusivas à erosão dentária.	26
Figura 4- Esmalte desmineralizado e remineralizado.	31
Figuras 5 e 6- Mecanismos de incorporação do ião fluoreto na hidroxiapatite.....	35
Figuras 7 e 8- Aplicação de verniz fluoretado.....	38
Figura 9- Microdurómetro.	42
Figura 10- Penetrador e lentes de aumento para determinação da microdureza.	43
Figura 11- Desenho de estudo.	45
Figuras 12, 13, 14, 15 e 16- Limpeza dos dentes com cureta de gracey.	48
Figuras 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 e 40- Etapas de corte das amostras.	53
Figura 41- Polimento das amostras.	53
Figura 42- Grupos de estudo.	56
Figura 43- Estufa a 37°C.	56
Figura 44- Lavagem dos fragmentos.	57
Figura 45- Processo de desmineralização.....	57
Figura 46- Escovagem das amostras.	58
Figuras 47, 48 e 49- Processo de aplicação do verniz de flúor.	59
Figuras 50, 51, 52 e 53- Teste da microdureza de Vickers.	60
Figura 54- Resumo do processamento do caso.	62
Figura 55- Teste da ANOVA.	64
Figura 56- Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 1000x. É observada uma desorganização do esmalte.	66
Figura 57- Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 5000x. É observada uma desorganização do esmalte e separação dos prismas com zonas mais heterogêneas. É de notar a presença de uma fratura de esmalte.	66
Figura 58- Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 10000x. É observada uma desorganização do esmalte (prismas encontram-se em variadas direções) e separação dos prismas com zonas mais heterogêneas.	67

Figura 59 -Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 1000x. É observada uma camada de fosfato de cálcio, denotando-se uma maior organização da superfície (superfície mais homogênea).....	67
Figura 60 -Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 5000x. É observada uma camada de fosfato de cálcio, denotando-se uma maior organização da superfície (superfície mais homogênea).....	68
Figura 61 -Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 10000x. É observada uma camada de fosfato de cálcio, denotando-se uma maior organização da superfície (superfície mais homogênea).....	68
Figura 62 -Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 1000x. É observada uma superfície um pouco heterogênea com alguma desorganização dos prismas de esmalte.	69
Figura 63 -Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 5000x. É observada uma superfície um pouco heterogênea com alguma desorganização dos prismas de esmalte.	69
Figura 64 -Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 10000x. É observada uma superfície um pouco heterogênea com alguma desorganização dos prismas de esmalte.	70
Figura 65 -Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 1000x. É observada uma camada de fosfato de cálcio, denotando-se uma maior organização da superfície (superfície mais homogênea).....	70
Figura 66 -Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 5000x. É observada uma camada de fosfato de cálcio, denotando-se uma maior organização da superfície (superfície mais homogênea).....	71
Figura 67 -Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 10000x. É observada uma camada de fosfato de cálcio, denotando-se uma maior organização da superfície (superfície mais homogênea).....	71
Figura 68 -Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 1000x. São observadas algumas irregularidades próprias do esmalte são.	72
Figura 69 -Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 5000x. São observadas algumas irregularidades próprias do esmalte são.	72
Figura 70 -Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 10000x. São observadas algumas irregularidades próprias do esmalte são.	73

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 -TWI.	23
Tabela 2 -Resumo dos resultados obtidos.	61
Tabela 3 -Resumo do processamento do caso.	62
Tabela 4 -Testes da Normalidade.	63
Tabela 5 -Teste da Homogeneidade de Variâncias.....	63
Tabela 6 -Teste da ANOVA.	64
Tabela 7 -Teste de Bonferroni.	65
Tabela 8 -Resumo das imagens obtidas em MEV.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS

nm	nanómetro
pH	potencial hidrogeniónico
mm	milímetro
%	percentagem
µm	micrometro
log	logaritmo
mg	miligrama
L	litro
ppm	partes por milhão
HAP	Hidroxiapatite
FHA	Fluorapatite
h	horas
MUC	mucina
GPa	gigapascal
°	Graus
MEV	Microscopia Eletrónica de Varrimento
g	gramas
mL	mililitros
grits	Unidade da granulometria
°C	Graus centígrados
ISO	Internacional Organization Standardization
rpm	Rotações por minuto
gf	grama-força
min	minutos
x/dia	vezes por dia
F/TCP	Flúor com fosfato tricálcico
Ca ²⁺	Ião de cálcio
PO ₄ ²⁻	Ião fosfato

H_2O	Água
OH	Hidróxido
H^+	Ião de hidrogénio
NaCl	Cloreto de sódio
KCl	Cloreto de potássio
CaCl_2	Cloreto de cálcio
S	Enxofre

I. INTRODUÇÃO

A) Esmalte Humano

1- Constituição e Propriedades Químicas

Segundo Xin Li, Pan, Lin, Zhuang, & Lin (2013), o esmalte dentário corresponde à região mais externa do dente humano, protegendo-o e sendo uma rede cristalina composta por vários minerais, citando, também, Strnad & Buka (2014). Ainda assim, o esmalte é considerado uma matriz extracelular bastante mineralizada (Chung, Li, & Hsu, 2012).

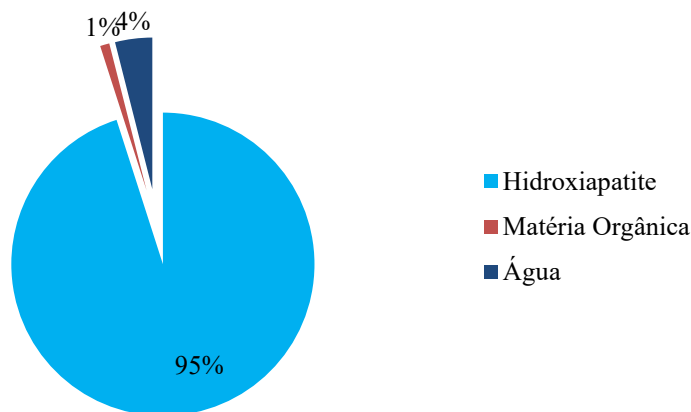


Figura 1-Gráfico ilustrativo da Composição do Esmalte.

Desta forma, a composição natural do esmalte engloba 95%-97% de hidroxiapatite (Xin Li et al., 2013), cerca de 3% de água e 1% de matéria orgânica, envolvendo proteínas e lípidos (Xiaoke Li, Wang, Joiner, & Chang, 2014). Neste contexto, o esmalte dentário corresponde a 96% do peso mineral. A hidroxiapatite constitui o principal componente do esmalte, sendo um complexo de minerais de fosfato de cálcio cristalino (Strnad & Buka, 2014; Zhou et al., 2012). O mineral nos dentes humanos é composto por uma alta quantidade de hidroxiapatite substituída (hidroxiapatite carbonatada deficiente em cálcio). Tal é possível ser representado por $\text{Ca}_{10-x}\text{Na}_x(\text{PO}_4)_{6-y}(\text{CO}_3)_y(\text{OH})_{2-u}\text{F}_u$ em contraste com a hidroxiapatite, representada por $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Tal como é perceptível na fórmula (10-x a seguir a Ca), o mineral dentário é deficiente em cálcio. Alguns dos íons de cálcio são restituídos por outros íons metálicos (sódio - o mais abundante, magnésio e potássio), o que constitui aproximadamente 1%.

Tal como o osso, esta é responsável pela atividade mecânica dos tecidos dentários (Roveri et al., 2009). Além disso, a hidroxiapatite encontra-se organizada numa micro e nanoarquitetura de um complexo tridimensional, o que contribui para a dureza do esmalte

(Chung et al., 2012). Os cristais de hidroxiapatite possuem 100 a 1000 nm de comprimento e 25 a 90 nm de largura, apresentando-se sob a forma de prismas que têm um diâmetro de 3 a 5 μm (Alsayed et al., 2016). A hidroxiapatite é regulada por uma matriz de proteínas e os seus nanocristais formam um complexo denso altamente ordenado, dando origem ao tecido mais duro do corpo (Xin Li et al., 2013). Sendo a camada mais externa dos dentes, o esmalte está em constante contacto com a saliva, com o fluido da placa e as superfícies dos cristais de hidroxiapatite encontram-se em equilíbrio com as fases aquosas adjacentes. Deste modo, o esmalte encontra-se em permanente alteração física e química (Xiaoke Li et al., 2014), mas comportando-se como o tecido mais duro, permite resistir a ataques mecânicos, de abrasão e químicos (Roveri et al., 2009).

Distintamente de outros tecidos mineralizados, o esmalte carece de proteínas que são cruciais para a sua formação. Durante a formação do dente, a matriz de proteínas é clivada através de proteinases, que são secretadas por ameloblastos. Esta matriz de proteínas não se encontra incorporada nos prismas de esmalte. O facto de ocorrer deterioração e retorno da matriz de proteínas do esmalte, faz com que os prismas de esmalte não possam ser remodelados, após a sua formação. Deste modo, depois da formação dos prismas de esmalte, apenas a hidroxiapatite pode diminuir em resultado de mudanças químicas que ocorrem na cavidade oral (Roveri et al., 2009).

2- Microestrutura

O esmalte é constituído por prismas, que têm origem na junção amelodentinária prolongando-se até à sua camada mais externa. Os prismas de esmalte possuem uma largura compreendida entre 4 e 5 μm de diâmetro, sendo constituídos por cristais de hidroxiapatite agrupados e altamente organizados. O espaço entre os cristais é plenificado por material orgânico e água, possibilitando a difusão de pequenas moléculas como o ácido láctico, o peróxido de hidrogénio e iões, como o hidrogénio e o cálcio (West & Joiner, 2014).

3- Anatomia de Superfície

O esmalte é um tecido translúcido, de cor esbranquiçada que no entanto apresenta uma certa coloração natural devido à presença de dentina subjacente (Gartner & Hiatt, 2007). A maioria dos indivíduos possui uma espessura de 2 mm na superfície oclusal de esmalte exposto (Zheng, Zheng, Weng, Qian, & Zhou, 2011). A sua composição diversifica-se de dente para dente e no próprio dente consoante os fatores que possam atuar no mesmo (Mohammed, Lynch, & Anderson, 2014).

4- Propriedades Mecânicas

O sistema de produção do esmalte ocorre a partir de uma série de eventos químicos e fisiológicos específicos, tais como a expressão genética e múltiplas secreções proteicas de ameloblastos específicos. Na eventualidade de numa primeira fase os ameloblastos secretores formarem a espessura da camada de esmalte com uma baixa percentagem de mineralização, numa segunda e após diferenciação dos ameloblastos de secreção em ameloblastos de maturação, irá ocorrer uma remoção da quantidade de matéria orgânica presente na matriz, no sentido de se formarem mais acima os cristais de hidroxiapatite, organizados em prismas.

O esmalte possui função de proteção dos dentes contra agentes físicos e químicos, tanto internos como externos. Tais características mecânicas devem-se nomeadamente à sua elevada organização estrutural e à íntima relação com a dentina. (Varga, G., Kerémi, B., Bori, E. & Földes, 2015).

Num estudo, foi testada a deformação de superfícies de esmalte. A deformação lateral de uma forma pode ser calculada a partir de um *stress* compressivo máximo para correção das características mecânicas. Neste sentido, existe uma relação na qual as deformações lateral e axial diminuem com o aumento da superfície de compressão diagonal. Tal facto é verificável, visto que existe uma fricção entre as placas de compressão e as superfícies de trabalho do esmalte aquando da deformação suprimida. Durante a compressão, o declive da superfície de esmalte era cerca de 15° devido à inclinação dos bastões rígidos e de baixa deformação do esmalte. As correções do módulo de elasticidade e da compressão estão dependentes da deformação lateral e do declive efetuado. Ainda neste estudo foram obtidos valores para o módulo de elasticidade e força de compressão do esmalte sob compressão: 5,64GPa e 363MPa, respetivamente. Neste sentido, é perceptível que as propriedades mecânicas do esmalte estão inerentes às

propriedades intrínsecas do mesmo. A deformação lateral (~10%) é considerada um parâmetro crítico, que indica a força do esmalte (Dmitry Zaytsev, 2016).

O esmalte é macroscopicamente anisotrópico, permitindo que a sua força e deformação em direção sejam 3 a 7 vezes maiores que em direções paralelas. O esmalte é considerado como isotrópico acima de ~5% de deformação de corte. A deformação irreversível só é atingida aquando da aplicação de carga nos prismas (D. Zaytsev & Panfilov, 2015).

5- Papel da saliva na proteção do esmalte

A saliva tem uma função importante que se comporta como lubrificante, ao longo do processo de mastigação, reduzindo o revestimento do dente. Neste sentido, tem sido utilizada saliva humana centrifugada como substituição da saliva humana em vários estudos *in vitro*. Aquando da centrifugação, as proteínas de alto peso molecular são removidas. Já as de baixo permanecem na saliva. A lubrificação proporciona a formação de película salivar dissemelhante e as suas propriedades mecânicas são não homogêneas. Já no caso da saliva ser centrifugada, a película salivar é homogênea. Ao contrário da saliva centrifugada, a saliva minimiza o efeito das células e dos detritos alimentares. No que respeita ao coeficiente de fricção, não existe diferença significativa entre os dois tipos de saliva, sendo a lubrificação semelhante (Zheng et al., 2011).

As interações entre as pectinas revestidas por lipossomas, a saliva da parótida e o esmalte dentário proporcionam a proteção deste último, visto que a pectina adsorve a hidroxiapatite. Os lipossomas positivos adsorvem melhor o esmalte do que a pectina revestida por lipossomas. Num estudo de Nguyen, Hiorth, Rykke, & Smistad, 2013, mais de 40% dos lipossomas permaneceu na superfície do esmalte.

6- Papel dos agentes fluoretados na proteção do esmalte

O flúor constitui o elemento mais eletronegativo, sendo, por isso, um dos mais reativos. Normalmente, o flúor ao estabelecer ligações forma sais. Exemplo disso resulta da sua ligação com o cálcio.

Os seus biomarcadores são 3: **biomarcador de efeito** (fluorose dentária), **biomarcador de suscetibilidade** (genética, estado nutricional, condições renais e ósseas) e **biomarcador de exposição** (plasma, soro, ossos, dentes, urina, saliva, placa bacteriana, unhas, cabelos).

O flúor incorporado no dente não lhe confere resistência duradoura. Ainda assim, é notória a importância da sua manutenção na cavidade oral. É de salientar que a absorção do flúor está dependente do pH do estômago, visto que são inversamente proporcionais. Os antiácidos diminuem a absorção do flúor sem interferir na reatividade com o esmalte (Dias, 2006).

Desde longos períodos de tempo que o flúor tem sido crucial na proteção do esmalte (Xiaoke Li et al., 2014). Neste sentido, a relação entre o flúor e a diminuição da desmineralização é log-linear (Mohammed et al., 2014). Vários estudos indicaram que o flúor é mais efetivo que o cálcio (Zini, Krivoroutski, & Vered, 2014).

O flúor pode encontrar-se sob várias formas e concentrações como, por exemplo, os vernizes de flúor que podem possuir concentrações desde 500mg/L (Mohammed et al., 2014).

Pode ser aplicado das seguintes formas: dentífricos, colutórios, géis e vernizes (T. Attin et al., 2005).

A presença de película adquirida, apesar de proteger o esmalte do ácido, reduz a magnitude do efeito do flúor, verificando-se que existe uma independência entre ambos (Mohammed et al., 2014). A presença da película adquirida permite que o fluoreto de cálcio se encontre mais estável e protetor (Algarni et al., 2015). As concentrações encontradas na superfície do esmalte são insuficientes para conferir esta mesma proteção (Xiaoke Li et al., 2014). A percentagem de flúor na cavidade oral encontra-se entre o indetetável e os 20ppm, sendo que, na generalidade dos casos, é entre 0,01ppm e 0,1ppm (Freyhofer et al., 2010).

O flúor pode induzir a criação de hidroxiapatite fluoretada ou de fluorapatite de forma direta com a hidroxiapatite ou por meio da transformação do fosfato de cálcio. É relativamente fácil a formação destes dois componentes na superfície do esmalte (Xiaoke Li et al., 2014). Contudo, dependendo das condições orais (pH da saliva e/ou da placa, camada de fluoreto de cálcio) assim vai permitir que o flúor reaja com os iões de cálcio e fosfato (Jardim, Pagot, & Maltz, 2008). Quando o ião de flúor é agregado à estrutura de hidroxiapatite do esmalte, este processo pode ocorrer de duas formas: reposição dos grupos hidroxilo ou redeposição da hidroxiapatite dissolvida sob a forma fluoretada (menos solúvel) (Duraismy, Xavier, Nayak, Reddy, & Rao, 2015). Desta forma, em vez de $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}$ (hidroxiapatite) passa a estar presente $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ (fluorapatite) (Mohammed et al., 2014).

B) Erosão do esmalte

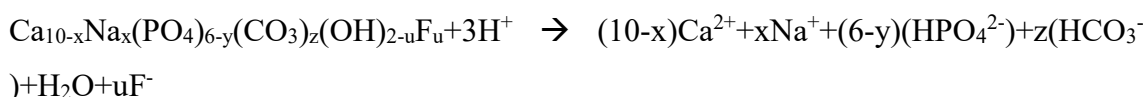
1- Definição

A expressão erosão provém do latim do verbo *erodere*, *erosi*, *erosum* (corroer), descrevendo o processo de destruição gradual de uma superfície, habitualmente através de um fenómeno eletrolítico ou químico (Imfeld, 1996). A erosão dentária consiste no desgaste químico dos tecidos duros do dente sem qualquer envolvimento bacteriano, correspondendo a uma das patologias dentárias capazes de causar mais desconforto, seguindo-se da doença periodontal e da cárie dentária (Roveri et al., 2009). Desta forma, o termo clínico erosão dentária ou *erosio dentium* é relatado como consequência física de uma perda patológica, crónica, localizada e indolor de tecido dentário duro, onde a superfície está quimicamente condicionada, por ácido e/ou quelação sem envolvimento bacteriano (Ali Shad, S. & Kanwal, 2013; Imfeld, 1996). Tal processo ocorre quando a fase aquosa se encontra subsaturada comparativamente com o mineral do dente (Sar Sancakli, Austin, Al-Saqabi, Moazzez, & Bartlett, 2015). O ataque ácido é uma das maiores causas de perda da hidroxiapatite do esmalte (Roveri et al., 2009). Esta ação endógena ou exógena dos ácidos é predominante ao nível das superfícies vestibulares, oclusais/incisais e palatinas/linguais (Freyhofer et al., 2010).

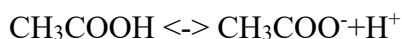
2- Aspetos Químicos

A erosão pode ocorrer por meio do ião hidrogénio derivado dos ácidos ou através dos aniões que se vinculam ou ainda por meio do complexo cálcio. Este último comporta-se como um agente quelante.

O ião hidrogénio proveniente dos ácidos dissocia-se na água. Este ião contacta com os cristais minerais dos dentes e dissolve diretamente pela combinação com os iões carbonato e fosfato.



A força dos ácidos é dada por meio da sua constante de dissociação (K_a). O que melhor descreve esta força é o $\text{p}K_a$, que corresponde ao logaritmo negativo do K_a . Aquando da igualdade do pH e do $\text{p}K_a$, 50% do ácido encontra-se sob a forma de anião e o restante sob dissociação, proveniente do hidrogénio. Perante a erosão dentária, os iões de hidrogénio interagem com a apatite, promovendo mudanças no equilíbrio do ácido o que permite que o ião hidrogénio continue a erosão dentária.



A constante de estabilidade (K) da interação anião-cálcio consiste na medida de força desta interação. Com o aumento dos valores do logaritmo K, há a indicação de uma camada mais forte. Esta encontra-se mais forte na fase em que o anião atrai o cálcio da apatite mineral (erosão do cristal da superfície). Deste modo, na erosão dentária ocorre a dissolução do mineral por meio da ação do ião hidrogénio e do complexo cálcio-anião.

A dentina mostra-se superior no que respeita a solubilidade relativamente ao esmalte. A combinação de cálcio e fosfato acima de qualquer linha é denominada supersaturada no mineral, não podendo ser dissolvido. Pelo contrário, aquando da subsaturação, dá-se dissolução. Quando o pH sobe devido à ação tampão da saliva, a solução torna-se supersaturada, formando-se um novo mineral na superfície do cristal. Se o fluor se encontra presente, pode ser originada fluorapatite, que possui solubilidade mais baixa ao contrário do esmalte inicial. É, então, importante reter que quando as concentrações de cálcio e fosfato se encontram a crescer em qualquer pH é possível que se encontrem acima da linha de solubilidade, interrompendo a dissolução dos cristais (Ganss, C., Lussi, A. & Schlueter, 2014).

É verificável que pode ser removido um número substancial de iões minerais da hidroxiapatite sem que ocorra qualquer destruição da sua integridade estrutural (Strnad & Buka, 2014). Os iões minerais que primariamente são removidos dos cristais de hidroxiapatite com a desmineralização são o cálcio e o fosfato (Duraismy et al., 2015). De uma forma geral, os iões através dos quais ocorre mais erosão são o carbono, o oxigénio, o fósforo e o cálcio, sendo que nas áreas onde o cálcio aumenta, o carbono diminui (Beyer, Reichert, Sigusch, Watts, & Jandt, 2012).

3- Aspetos Histológicos

Aquando da desmineralização do esmalte, existem características histológicas específicas. A superfície do esmalte é dissolvida, proporcionando uma superfície rugosa semelhante à de um ataque ácido. Contudo, *in vivo* a histologia na presença de erosão ainda não é totalmente conhecida, existindo falta de conhecimento nessa componente (Ganss, C., Lussi, A. & Schlueter, 2014).

4- Classificação segundo os fatores etiológicos

A patogénese da erosão é multifatorial (Freyhofer et al., 2010). Existem ácidos que se introduzem na cavidade oral através de produtos alimentares tais como bebidas acidificadas (Redbull®, Coca-Cola®, etc) que, muitas das vezes, possuem pH que varia

entre 1 e 6 (Zheng et al., 2011). Desta forma, a exposição crónica a ácidos extrínsecos ou intrínsecos induzem erosão dentária (Strnad & Buka, 2014).

O consumo de refrigerantes, sumos de fruta e bebidas energéticas tem vindo a ter um enorme crescimento (Roveri et al., 2009). Os refrigerantes promovem desmineralização e amolecimento do esmalte (Chung & Huang, 2013). A camada de amolecimento encontra-se compreendida entre os 2 e os 5µm (Freyhofer et al., 2010). As bebidas não alcoólicas são mais ácidas (Y. L. Wang et al., 2014). Outros ácidos como, por exemplo, xaropes, analgésicos e vitamina C ou a exposição a ácidos provenientes da exposição ocupacional são um conjunto de situações que provocam erosão do esmalte. Estes ataques ácidos atingem alguns micrómetros da superfície mais externa do esmalte, levando à desmineralização e à dissolução da fase mineral (Roveri et al., 2009).

Associado à dieta, é considerado que a forma como os ácidos são consumidos é mais importante do que a quantidade ingerida. É neste sentido, que longos períodos de tempo em exposição a bebidas ácidas aumentam significativamente o risco de erosão (Freyhofer et al, 2010). No que respeita aos pacientes com regurgitação ou com vômitos frequentes, estes padecem do efeito do ácido clorídrico que ao juntar-se à ação da pepsina gástrica (degradação das fibras de colagénio) induzem a perda progressiva de tecido, pois não existe qualquer mecanismo de neutralização/remineralização (Freyhofer et al., 2010).

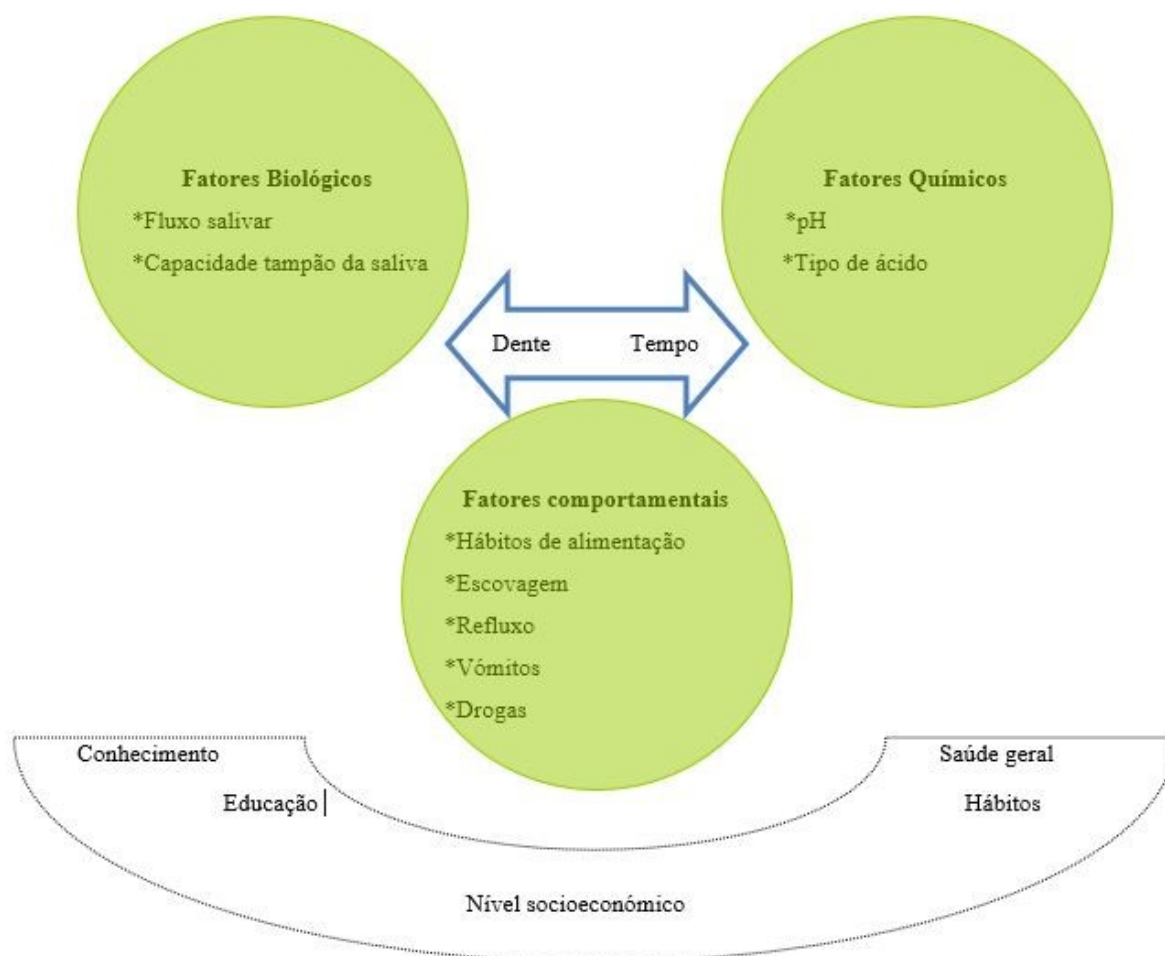


Figura 2-Fatores da erosão dentária.

Através do esquema é possível determinar que a erosão dentária encontra-se relacionada com a interação entre fatores comportamentais, biológicos e químicos porém também com a sua relação com o nível de educação, socioeconômico e variáveis nutricionais, culturais e geográficas(Lussi, Schaffner, & Jaeggi, 2007; Nunn, Gordon, Morris, Pine, & Walker, 2003).

No que respeita as variáveis socioeconômicas, estas têm sido relacionadas com o tratamento odontológico por diversos autores (Al-Majed, Maguire, & Murray, 2002; Luo, Zeng, Du, & Bedi, 2005). Segundo Millward, A., Shaw, L. & Smith, 1994, na presença de níveis socioeconômicos mais altos existia uma maior prevalência de erosão dentária. Também segundo estes autores, estes resultados podem ser consequentes de padrões de dieta diferentes e hábitos de higiene oral, isto é, um maior consumo de sumos e refrigerantes e uma maior frequência de escovagem. Não obstante, em níveis

socioeconómicos mais baixos foi verificada uma maior prevalência de erosão dentária em crianças (Kazoullis, S., Seow, W. K., Holcombe, T., Newman, B. & Ford, 2007). Al-Majed et al. (2002); Al-Malik, Holt, & Bedi (2001) não encontraram uma relação entre a prevalência de erosão dentária e o nível socioeconómico.

Relativamente às variáveis nutricionais, (McGuire, Szabo, Jackson, Bradley, & Okunseri, 2009) determinaram que adolescentes de baixo peso possuem menor probabilidade de ter erosão dentária. O autor também atenta que é ainda fundamental um maior número de estudos que relacionem esta variável com a erosão dentária, de forma a que se possa concluir, ou não, se a obesidade é um fator de risco para a erosão dentária (McGuire et al., 2009). Uma das causas intrínsecas mais frequentes da erosão é o ácido gástrico. Este pode ocorrer na cavidade oral, permitindo um contacto dentário, proveniente da doença de refluxo gastroesofágico, regurgitação ou vómito (Imfeld, 1996; Luo et al., 2005).

Respeitante às variáveis comportamentais, os hábitos alimentares constituem o fator extrínseco comportamental mais associado à prevalência de erosão dentária (Al-Malik, Holt, & Bedi, 2001; Kazoullis, S., Seow, W. K., Holcombe, T., Newman, B. & Ford, 2007; Luo et al., 2005). Estudos expõem uma clara relação entre a ingestão de bebidas potencialmente erosivas (bebidas desportivas, bebidas com ácido fosfórico e outras bebidas carbonatadas) com o aparecimento de lesões de erosão (Waterhouse, Auad, Nunn, Steen, & Moynihan, 2008). Antigamente, era entendido que o fator primário para o desenvolvimento de erosão era o nível total de ácido, que fornece a quantidade de iões de hidrogénio disponíveis para interação com a superfície dentária, e não o valor do pH (Lussi, Adrian & Jaeggi, 2006). Atualmente, tal é refutado, pois o pH inicial do alimento ou da bebida ingerida é o parâmetro químico mais significativo (Taji & Seow, 2010). Segundo Lussi, Adrian & Jaeggi (2006) não existe um pH crítico abaixo do qual há erosão. É provável que mesmo com um pH baixo, outros fatores antagónicos sejam o suficiente para prevenir este processo (Lussi, Adrian & Jaeggi, 2006). A frequência da ingestão de bebidas é um dos fatores cruciais a considerar (Luo et al., 2005). A forma de ingestão de uma bebida é um aspeto que não deve ser menosprezado. Por exemplo, se o consumo for feito de forma imediata, ou seja, engolindo imediatamente ou utilizando uma palhinha, há uma diminuição do risco de erosão (Johansson, Omar, Carlsson, & Johansson, 2012). Quanto à temperatura, a bebida quando consumida à temperatura ambiente apresenta um potencial erosivo maior do que a uma temperatura mais baixa (Lussi, Adrian & Jaeggi, 2006). O facto de se ingerir água é fulcral (evita a erosão), visto

que um dos fatores que promove o efeito erosivo das bebidas é a ingestão das mesmas aquando da desidratação (Lussi et al., 2007).

5- Potencial erosivo

Encontra-se provado que o consumo indiscriminado de certas comidas ácidas causa erosão dentária (Mesko, Skupien, & Pereira-Cenci, 2014).

No sentido do potencial erosivo, tal como já mencionado, é possível analisar diversos graus de severidade das lesões. Um dos índices mais utilizados é o índice TWI (Tooth Wear Index) sugerido por Smith and Knight, em 1984. Este índice refere-se ao desgaste dentário geral (Margaritis, V. & Nunn, 2014).

Classe	Superfície	Critério
0	V, L, O, I	Sem perda das características da superfície do esmalte
	C	Sem perda de contorno
1	V, L, O, I	Perda das características da superfície do esmalte
	C	Perda mínima de contorno
2	V, L, O	Perda de esmalte expondo a dentina em menos de um terço da superfície
	I	Perda de esmalte apenas expondo a dentina
	C	Defeito com profundidade < 1mm
3	V, L, O	Perda de esmalte expondo a dentina em mais de um terço da superfície
	I	Perda de esmalte e perda substancial da dentina
	C	Defeito com profundidade < 1-2 mm
4	V, L, O	Perda total do esmalte, com exposição da dentina secundária ou com exposição da polpa
	I	Exposição da dentina secundária ou exposição da polpa
	C	Defeito com profundidade > 2mm, com exposição da dentina secundária ou com exposição da polpa

Tabela 1-TWI.

6- Prevalência

Segundo o estudo de Salas, Nascimento, Huysmans, & Demarco, 2014, a prevalência de erosão dentária em dentes permanentes de crianças e adolescentes é de 30,4% com uma alta heterogeneidade entre os estudos.

Já no estudo de Helena, Schmitt, & Araújo, 2013 foi conclusivo que a prevalência da erosão foi bastante variada, sendo consideravelmente mais elevada em dentes decíduos

em uma afeção, na sua maioria, apenas de esmalte. Aqui, o género e o nível socioeconómico foram considerados como não determinantes da prevalência da erosão. O desgaste provocado por esta foi essencialmente devido a consumo de alimentos, bebidas, drogas e refluxo gastro esofágico (Helena et al., 2013).

Picos et al., 2014 demonstraram que o risco de erosão dentária em doentes portadores de refluxo gastroesofágico é significativamente mais alto que em indivíduos sem essa mesma doença. No que respeita o sexo, a prevalência foi mais elevada no sexo feminino (Picos et al., 2014).

A prevalência da erosão dentária tem vindo a aumentar ao longo do tempo em crianças, segundo uma pesquisa em 1993 para um estudo de 1996/1997 em idades compreendidas entre 4 e 18. Existe uma alta prevalência em crianças com idades entre os 3,5 anos e os 4,5 anos, sendo que estas consumiam bebidas carbonatadas em mais dias (Ganss, C., Lussi, A. & Schlueter, 2014).

A suscetibilidade à erosão dentária varia entre indivíduos, sendo influenciada pela sustentabilidade do esmalte e por fatores do meio oral. Tal facto permite explicar a variação existente na prevalência da erosão dentária, assim como o grau de severidade da mesma que muda de indivíduo para indivíduo exposto a condições acídicas semelhantes. Deste modo, através de um estudo é possível inferir que determinados indivíduos, ao mínimo contacto com soluções acídicas, provoca dano nos dentes. Pelo contrário, noutros não há qualquer desenvolvimento de erosão dentária mesmo com uma exposição extensa ao ácido (Uhlen, Mulic, Holme, Tveit, & Stenhagen, 2016).

A erosão dentária é um problema cada vez mais frequente nas variadas faixas etárias, desde crianças e adolescentes a adultos (Do Amaral, Delbem, Pessan, Manarelli, & Barbour, 2016). Contudo, denota-se que a erosão é mais frequente em adultos com idades compreendidas entre os 52 e os 56 anos comparativamente a adultos entre os 32 e os 36 anos (Freyhofer et al., 2010). Preferivelmente, estas lesões devem ser detetadas o mais precocemente possível, apesar de ser difícil o seu diagnóstico (Zini et al., 2014).

7- Incidência

A incidência de novos casos com lesões de erosão dentária tem vindo a aumentar. Segundo Ganss, C., Lussi, A. & Schlueter, 2014, 12% das crianças com idade de 12 anos não demonstraram evidência de desenvolvimento da erosão nos 2 anos seguintes. Também neste mesmo estudo, em 27% das crianças foram observadas novas lesões de erosão ou lesões mais avançadas. Lesões de erosão ativas progridem aquando da não

adequação de medidas preventivas. Também a progressão nas faces oclusais foi maior que nas restantes (Ganss, C., Lussi, A. & Schlueter, 2014).

8- Manifestações Clínicas

O esmalte corresponde a um tecido relativamente estável, onde a saliva e os fluídos orais diligenciam constantemente um balanço entre a dissolução e a deposição de minerais. Contudo, caso a dissolução ocorra cineticamente em maior intensidade que a deposição, poderá sobrevir desmineralização (Chung et al., 2012). Assim, a desmineralização consiste na dissolução da hidroxiapatite na superfície do esmalte, provocando diretamente perda de substância, assim como diminuição da dureza e módulo de elasticidade da superfície do esmalte. Clinicamente, é possível observar a desmineralização devido tanto ao agente erosivo como à abrasão da superfície desmineralizada (Zheng et al., 2011). Inicialmente, a solução ácida irá trespassar a película adquirida (Freyhofer et al., 2010). Consequentemente, a erosão começa por provocar a destruição do esmalte e no decorrer do processo surgem os "favos de mel" (Y. L. Wang et al., 2014). Portanto, a erosão inicial incita um amolecimento do esmalte, que vai sendo progressivamente maior, tornando-se irreversível (Ionta et al., 2014). Primariamente, não se observa qualquer afeção do colagénio devido ao ataque ácido, formando-se apenas redes de fibrilhas com a matriz desmineralizada (barreira protetora temporária) (Freyhofer et al., 2010).

As superfícies apresentam-se como lisas, suaves, com a presença de manchas esbranquiçadas (inicialmente), com um aspeto vidroso e sem qualquer brilho, sendo, por vezes, até opacas. Contudo, nos rebordos proximais das faces vestibulares aquando da existência destas lesões, estas parecem encontrar-se intactas. Tal facto dá-se graças à própria película adquirida, que atua como barreira, ou devido ao fluído do sulco gengival, que possui um efeito ácido-neutralizante. Já nas superfícies oclusais/bordos incisais, o esmalte apresenta concavidades que, por vezes, eliminam a própria anatomia oclusal (Freyhofer, Vicente Aránguiz García, Pilar Baca Emilson, Claes-Göran Fredes, Olaya Fernández Soler, Santiago Gómez Traub, Rodrigo Mariño Biermann, Stefania Martignon Calvo, Juan Eduardo Onetto Espinoza, Sergio Uribe Litovsky, Alberto Villa López, 2010).



Figura 2-Imagens alusivas à erosão dentária – imagens cedidas pela Prof. Doutora Cristina Manso

A-Cupping de esmalte

B-Desgaste dos bordos incisais.

C-Desgaste das superfícies palatinas.

9- Distribuição

A erosão dentária exterioriza-se tendo em conta com o seu fator etiológico, sendo os refrigerantes um fator que afeta de forma significativa quem os consome exageradamente. Neste contexto, a localização das lesões altera de um paciente que execute uma alimentação ácida ou beba muitos refrigerantes para um paciente com refluxo gastroesofágico (Dundar & Sengun, 2014; Picos, A., Chisnoiu, A. & Dumitracu, 2013). Em todas as superfícies dentárias são observáveis sinais de erosão dentária. Ainda assim, as zonas mais frequentes são as faces oclusal, vestibular e lingual dos dentes. Se a lesão é proveniente de fatores extrínsecos, sucederá principalmente nas zonas vestibulares dos dentes anteriores, nas superfícies oclusais dos molares e nas faces linguais dos dentes posteriores. Pelo contrário, se a causa pela qual o paciente expõe lesões de erosão for de natureza intrínseca, estas irão manifestar-se primeiramente nas superfícies palatinas dos dentes e nas faces oclusais dos molares mandibulares. Ainda assim, o terço cervical é o

mais afetado, visto que constituem regiões de difícil limpeza, permitindo que o ácido atue mais tempo (Dundar & Sengun, 2014).

10- Diagnóstico e Classificação

Um diagnóstico seguro e precoce é essencial para a prevenção de problemas irreversíveis e severos na dentição. É, desta forma, fulcral para o médico dentista obter uma anamnese detalhada acerca da ocupação e hábitos do paciente, de forma a analisar os fatores etiológicos da erosão e dominar os sinais, sintomas e a sua forma de evolução (Dundar & Sengun, 2014; Schlueter, Jaeggi, & Lussi, 2012).

Um diagnóstico precoce da erosão dentária é fulcral. Muitas vezes, profissionais ignoram estadios muito precoces da perda de esmalte, pois consideram ocorrências inevitáveis da rotina diária. Ainda assim, aquando já da exposição dentinária e possível sensibilidade já se requer uma examinação rotineira. Não existe um dispositivo próprio para detetar as lesões erosivas na prática diária. Deste modo, a aparência clínica é a forma mais importante para a deteção das mesmas. O aparecimento de zonas com um aspeto vidroso suave, a superfície junto da margem gengival intacta, mudança de cor e desgaste das superfícies oclusais são sinais precoces de erosão dentária. Ainda assim, torna-se difícil um diagnóstico precoce, sendo importante o diagnóstico diferencial entre erosão, abrasão e atrição e avaliando a sua multifatoriedade. Em crianças as áreas mais comuns afetadas são as superfícies oclusais dos molares e as incisais dos incisivos. Estas superfícies também são sujeitas a atrição, sendo difícil distinguir se as lesões são provenientes de erosão ou atrição (Ganss, C., Lussi, A. & Schlueter, 2014).

Têm sido utilizados vários índices com o intuito de avaliar quantitativamente e qualitativamente a erosão dentária como o de Larsen et al., 2000 e de Bartlett, Ganss, & Lussi, 2008, sendo que muitos são modificações dos primeiros índices. Em 1995, no Europe Workshop on Dental Erosion, foi sugerida a criação de um índice com o intuito de diagnosticar a presença e a progressão da erosão dentária. Atualmente, ainda não existe um consenso para a avaliação da erosão dentária (Young et al., 2008). Eccles, 1979 sugeriu um índice, classificando lesões como iniciais, pequenas e avançadas, não existindo uma definição rigorosa e permitindo, deste modo, uma maior margem de interpretação. Mais tarde, este índice foi expandido, apresentando uma exposição detalhada de três níveis de erosão e avaliando quatro superfícies dentárias (classificadas quanto à severidade e local da erosão). Este índice tornou-se num dos índices cardinais, a partir do qual outros evoluíram (Imfeld, 1996; Young et al., 2008). Em 1984, Smith e

Knight conceberam um novo índice: Tooth Wear Index (TWI). Este classifica cada uma das quatro superfícies de todos os dentes presentes. Não obstante, este não diferenciava nenhum dos tipos de desgaste dentário, abrasão, atrição e abfração da erosão (Young et al., 2008). Neste sentido, tendo em conta que não diferenciava a erosão de outras lesões de desgaste dentário, Ganss & Lussi, 2008 declararam que o TWI não seria um índice indicado aquando da necessidade de sondar especificamente a prevalência de erosão dentária.

Em 2007, em Basileia (Suíça), foi criado o índice Basic Erosive Wear Examination (BEWE). Este permite a avaliação através da superfície mais afetada de cada sextante e a soma destes resultados tem conexão com uma tabela de guidelines que enuncia como agir de acordo com a severidade ou risco de erosão (Young et al., 2008). Os resultados estimam a aparência ou severidade da erosão dentária na superfície, desde sem perda, perda inicial de textura, defeito distinto, perda de tecido dentário de menos de 50% da área de superfície ou perda de tecido dentário de mais de 50% da área de superfície (Ganss & Lussi, 2008). Ainda assim, este índice continha várias limitações, pois não permite obter o grau de distribuição e gravidades das lesões por dente, nem informa qual o sextante mais afetado. Assim, apenas informa qual o dente com a lesão mais severa. Por outro lado, também não possibilita a distinção entre uma lesão avançada com proximidade pulpar e uma com apenas perda de tecido duro em mais de metade da superfície (Bardsley, 2008).

Relativamente ao Índice de O'Brien, este é o mais usado em estudos acerca da prevalência de erosão dentária em crianças (Bardsley, 2008). Este categoriza a profundidade e a área da lesão erosiva, classificando qualquer superfície dentária (Murakami et al., 2011). Para a classificação da profundidade, a superfície dentária erodida pode ser classificada em 1, 2 ou 3 referente à lesão em esmalte, em dentina ou com exposição pulpar, respetivamente. A categorização da área da lesão deve ser realizada sempre com base na pior pontuação de profundidade encontrada, sendo que esta se divide em 1, 2 ou 3 relativamente à lesão com menos de 1/3 da área, até 2/3 da área e mais de 2/3 da área da superfície dentária, por esta ordem. Para ambos os critérios, a pontuação 0 designa uma superfície hígida e a de 9 indica uma superfície na qual a avaliação não pode ser realizada (Murakami et al., 2011). Um índice para avaliar a erosão deverá conter as seguintes características: fácil de aplicar na prática diária; adaptável a estudos epidemiológicos de prevalência; capaz de monitorizar a evolução/progressão da lesão de erosão; reprodutível entre examinadores em diferentes meios, com e sem

aparelhos de ampliação, luz ambiente, e hidratação da superfície dentária (seca/molhada); capaz de determinar a causa de erosão do indivíduo exposto; capaz de indicar a necessidade de tratamento e deve servir para dentição primária e permanente. Destes critérios, o índice de O'Brien não abrange os seguintes critérios: capaz de monitorizar a evolução/progressão da lesão de erosão; capaz de determinar a causa de erosão do indivíduo exposto e capaz de indicar a necessidade de tratamento (Young et al., 2008).

11- Prevenção e Remineralização das Lesões Erosivas

Com a análise de todos os fatores de risco e que estão na etiologia da erosão dentária, há medidas de controlo e prevenção que podem ser tomadas, de acordo com a presença de um ou vários fatores. Tal depende do caso clínico em questão. As medidas preventivas têm o objetivo principal de diminuir a progressão das lesões e de reduzir/eliminar a sensibilidade dentinária (Freyhofer et al., 2010).

Neste sentido, às medidas generalizadas de Imfeld (1996) agregam-se a educação para a saúde, a diminuição da frequência da ingestão de dietas ácidas e a alteração dos estilos de vida que contribuem para o desenvolvimento de erosão dentária (Freyhofer et al., 2010). Segundo Magalhães, Wiegand, Rios, Honório, & Buzalaf, 2009, existem medidas específicas que devem ser tidas em consideração:

- *Ingerir bebidas ácidas muito depressa e frias ou que contenham altas concentrações de cálcio, fosfato, flúor e xilitol;

- *Relacionar a etiologia com o tratamento, tendo em consideração se a desordem é do foro orgânico ou psicossomático;

- *Aumentar o fluxo salivar, mascando pastilhas sem açúcar, bochechando a boca com água, leite ou soluções de baixa concentração de flúor;

- *Consumir alimentos com pH neutro como o leite e o queijo;

- *Utilizar mais frequentemente dentífricos, géis ou soluções fluoretadas;

- *Não escovar os dentes imediatamente após a ingestão de bebidas/alimentos ácidos. Casos em que sejam escovados, deve ser feito de forma leve e com baixa pressão.

Ainda nesta sequência, outros autores (Lussi et al., 2007) introduziram mais particularidades: redução do tempo de contato com os ácidos ou presença apenas dos mesmos nas refeições principais; não realização de gargarejos ou de golos de bebidas ácidas; não escovagem dos dentes após ação ácida e em vez de escovagem, enxaguamentos fluoretados ou uma solução de bicarbonato de sódio, leite ou alimentos como queijo ou iogurte sem açúcar. Se não existir algum destes produtos, devem ser

realizados apenas bochechos apenas com água, aplicações de flúor em gel, pasta ou solução antes de alguma ação ácida, aplicações suaves, pelo menos uma vez por semana, de flúor tópico concentrado, levemente acidulado, e mascar pastilhas com o intuito de reduzir o refluxo pós-prandial (Freyhofer et al., 2010).

Distintamente do osso, quando a hidroxiapatite do esmalte é dissolvida não tem capacidade de remineralizar espontaneamente. Deste modo, o esmalte pode ser reconstruído por meio de materiais aloplásticos provenientes de uma restauração protética (Roveri et al., 2009).

A perda de esmalte erodido é constituída por um processo dinâmico que contempla fases de desmineralização e remineralização. A remineralização consiste na recuperação mineral dos íons da hidroxiapatite (Zheng et al., 2011). Deste modo, na sequência da erosão existe um decréscimo da cristalinidade e no seguimento da remineralização (aumento da concentração de péptidos) ocorre o aumento da cristalinidade (Chung & Huang, 2013). A saliva, contém os íons inorgânicos (cálcio e fosfato), que são necessários para a remineralização (Zheng et al., 2011) e, neste sentido, verifica-se pois que as concentrações dos mesmos são suficientes para inibir a desmineralização causada pelos ácidos e, portanto, remineralizar ou prevenir as lesões iniciais e encontram-se em contínuo contacto com a superfície dos dentes. Ainda assim, quanto maior a profundidade da lesão, menor será a efetividade da *clearence* e do efeito tampão da saliva, causando maioritariamente sensibilidade dentinária (Freyhofer et al., 2010). É também relevante a mudança dos agentes erosivos no sentido de reduzir a erosão dentária (Beyer et al., 2012). Salienta-se que a presença crescente de flúor em soluções acídicas permite a diminuição da desmineralização do esmalte (Mohammed et al., 2014). Ainda assim, não é significativamente relevante (X. Wang, Mihailova, Klocke, Heidrich, & Bismayer, 2011).

O esmalte pode ser reforçado fisicamente através da remineralização. Este está dependente do desenvolvimento da sua composição como, por exemplo, o decréscimo da saturação dos minerais (Alsayed et al., 2016).

A remineralização corresponde a “qualquer modificação das estruturas duras do dente por inclusão de minerais no seu interior, quando previamente foram desmineralizadas”. Deste modo, a remineralização é um processo natural de reparação do esmalte e cemento que se encontram parcialmente desmineralizados, com o objetivo de manter o dente íntegro ao longo do tempo. É de referir que a remineralização nunca ocorre de forma total e absoluta, mas sim dá-se uma recuperação em torno dos 25% da dureza

superficial inicial. Deste modo, a reconstrução completa da densidade mineral não constitui um obstáculo no aumento da resistência do esmalte. Essencialmente, este processamento dá-se nos cristais superficiais parcialmente desmineralizados, originando raramente cristais totalmente novos. Aquando da remineralização das lesões subsuperficiais, esta é muito lenta e a completa remineralização poderá suceder-se, mas ao fim de vários anos (Freyhofer et al., 2010). Por conseguinte, a remineralização permite o retorno dos minerais à estrutura molecular do dente (Strnad & Buka, 2014). Após esta suceder-se, os referidos “favos de mel” da desmineralização aparecem parcialmente (Zheng et al., 2011).

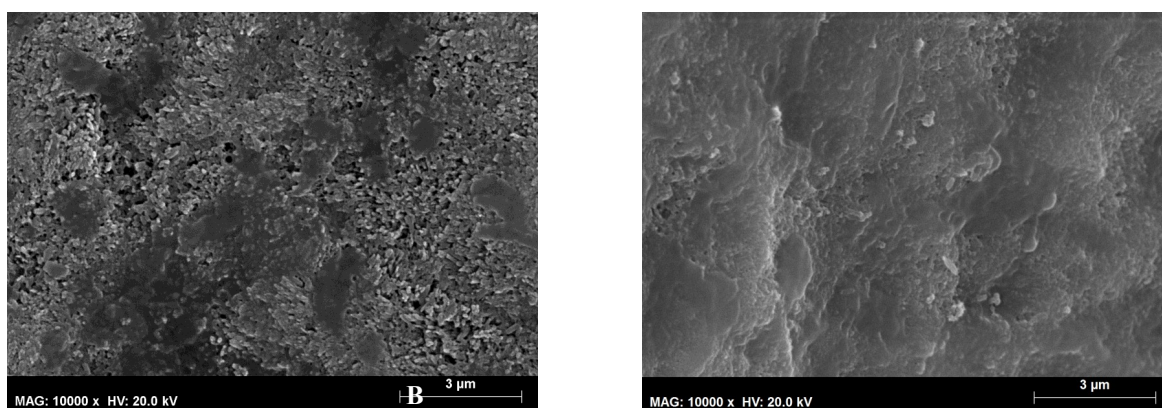


Figura 3-Esmalte desmineralizado e remineralizado. Imagens da autora.

A-Desmineralização do esmalte em Microscopia Eletrónica de Varrimento (diâmetro dos poros ampliados).

B-Remineralização do esmalte em Microscopia Eletrónica de Varrimento (diâmetro dos poros diminuído).

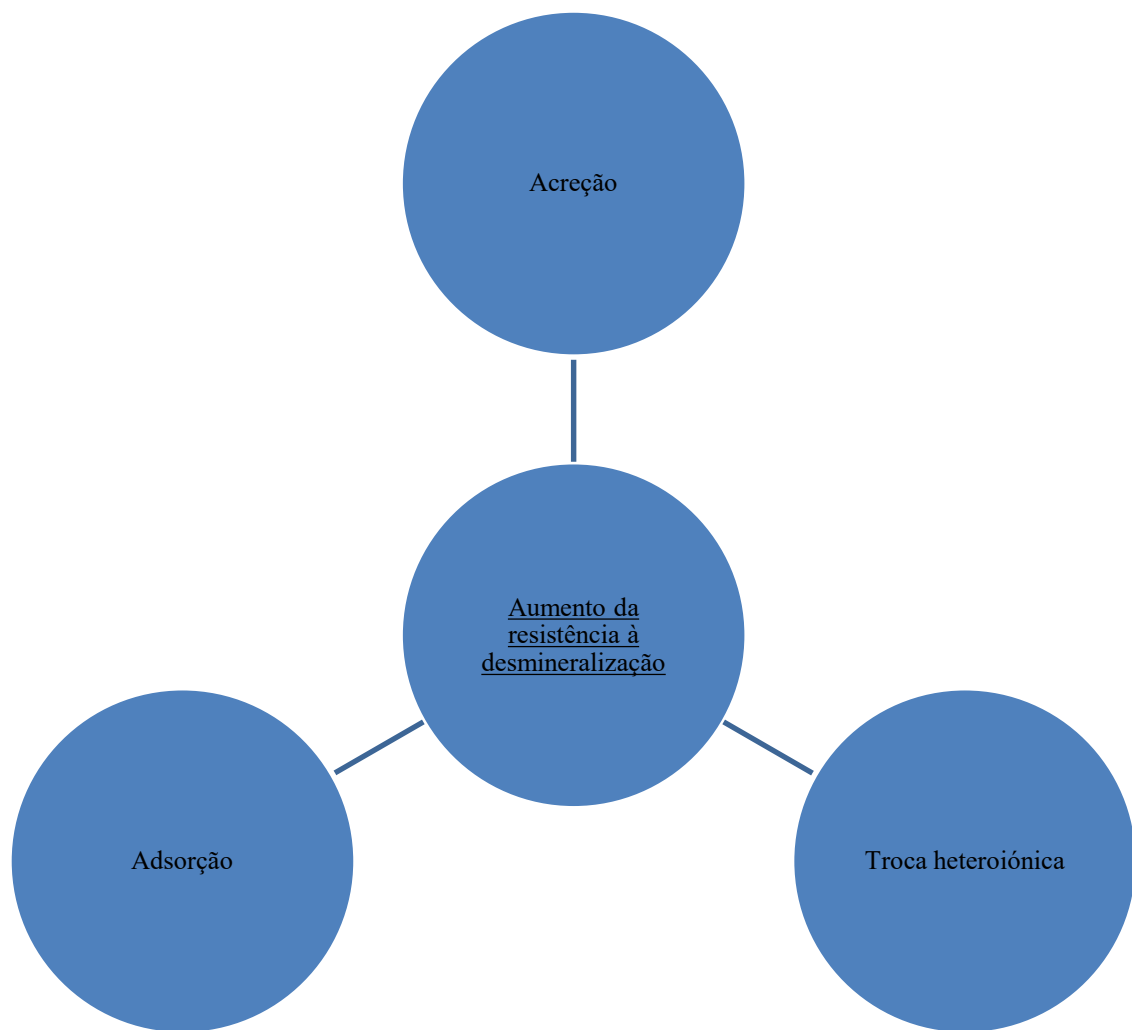
O flúor possibilita a remineralização artificial, gerando fluorapatite, que é mais forte e resistente aos ataques ácidos do que a hidroxiapatite natural. Nas pastas dentífricas, o flúor protege o esmalte do ácido e fomenta a recuperação, de certa forma, da dureza após ataque ácido (Strnad & Buka, 2014). Além disso, os componentes inorgânicos tornam-se mais reativos devido à sua não estequiometria e inclusão de impurezas, como os grupos carbono. A fluorapatite permite também a reunião de condições termodinamicamente melhores para a receção dos iões de cálcio dissolvidos (Xiaoke Li et al., 2014). Tal verifica-se mesmo em concentrações baixas de flúor, podendo-se aferir uma interdição da dissolução do esmalte desde 0,014 a 2,0 mg/L (Mohammed et al., 2014). O tempo de redução da dissolução é influenciado pelo flúor (Do Amaral et al., 2016). Comparativamente a concentrações mais altas de flúor, as concentrações mais baixas permitem melhores resultados na redução da desmineralização. Tal verifica-se,

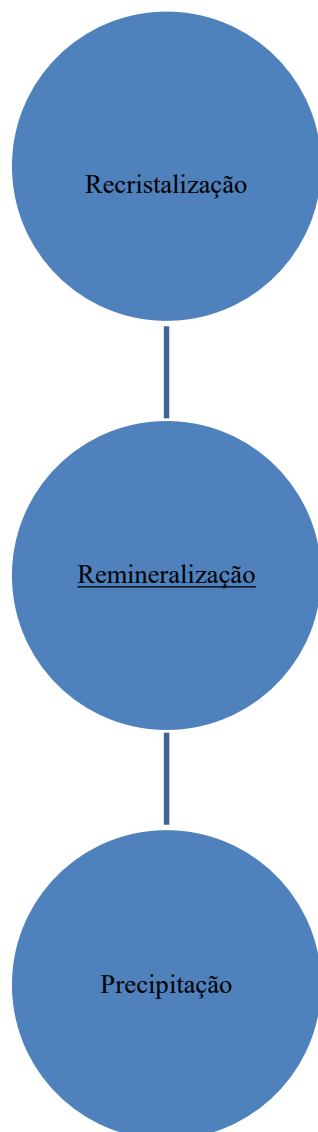
pois níveis baixos de flúor presentes na saliva inibem significativamente a desmineralização e níveis elevados na placa potenciam a remineralização. Deste modo, baixas concentrações de flúor são relevantes na prevenção e altas concentrações são cruciais aquando do início da dissolução do esmalte (Mohammed et al., 2014). As proteínas da placa influenciam a formação e a estabilidade do fluoreto de cálcio que se forma como consequência da exposição do esmalte ao flúor. Assim, e tal como atrás mencionado, a composição proteica da placa adquirida modifica o mecanismo protetor da erosão do esmalte (Algarni et al., 2015). Altas concentrações de flúor possuem alguns benefícios na presença de biofilme dentário jovem (Ferreira, Aragão, Rosa, Sampaio, & Menezes, 2009).

Estudos mostraram que o flúor reduz os resultados da desmineralização, inibindo esta de forma parcial (Tschoppe & Meyer-Lueckel, 2011). Deste modo, os vernizes de flúor não previnem completamente a erosão, mas sim a progressão da mesma (Carvalho et al., 2015). Um estudo mostrou que a captação de flúor em superfícies desmineralizadas era maior que nas superfícies controlo (Thomas Attin et al., 2007). Desta forma, a difusão e penetração do flúor é superior na superfície porosa do esmalte desmineralizado, oferecendo a porosidade uma maior retenção para o flúor (T. Attin et al., 2005). Tanto em estudos *in vitro* como em estudos clínicos, o uso de flúor tópico tem mostrado a diminuição da desmineralização do esmalte (Duraismy et al., 2015). É de realçar que em certos estudos foi mostrado que os vernizes de flúor eram bastante eficazes, nomeadamente em lesões erosivas severas (Carvalho et al., 2015). No entanto, noutro estudo foi mostrado que a proteção oferecida pelo verniz de flúor é estatisticamente significativa na região anterior da maxila e da mandíbula, mas não na média e posterior (Perrini, Lombardo, Arreghini, Medori, & Siciliani, 2016). Alguns estudos mostraram que o uso apenas de vernizes de flúor ou apenas de pastas dentífricas não permite só por si progressos na remineralização, sendo importante o uso concomitante dos dois (Jardim et al., 2008). Assim, distintamente do flúor sistémico, o uso tópico de flúor pode ser articulado com vários métodos entre si e com um método sistémico (Dias, 2006). Outro estudo mostrou que entre o verniz e outros tipos de formulações de flúor não houve qualquer diferença ao nível da microdureza, mas que ainda assim se mostrou mais eficaz. Também ainda neste estudo, o gel mostrou possuir melhores resultados na dureza (Lee et al., 2010). À semelhança do referido, nalguns estudos foi perçetível que o uso de vernizes de flúor não teve resultados significativos no que respeita o aumento da microdureza (Jardim et al., 2008). Assim, alguns autores afirmam que a evidência clínica é limitada

(Lenzi, Montagner, Soares, & De Oliveira Rocha, 2016). As faces dentárias que careçam de flúor, devem ser sujeitas à aplicação de vernizes (Thomas Attin et al., 2007). Nesta sequência, a utilização de flúor tópico a altas concentrações protege de ataques erosivos, aumentando a resistência à abrasão e a diminuição do progresso das lesões de erosão (Xiaoke Li et al., 2014). Tal verifica-se, pois aquando de um novo ataque erosivo a camada dissolvida será a de flúor, daí a importância da formação de camadas suficientes de fluoreto de cálcio no esmalte e flúor adsorvido nos cristais (T. Attin et al., 2005). A própria utilização de pastas dentífricas e de colutórios com flúor permitem esta prevenção (Xiaoke Li et al., 2014). Tal facto verifica-se, pois o uso tópico de flúor (verniz de flúor) permite um período longo de contacto entre o flúor e a superfície de esmalte, diminuindo a solubilidade da mesma (Duraismy et al., 2015).

O ião fluoreto pode ser incorporado na hidroxiapatite através de diversos mecanismos: adsorção, troca, recristalização, precipitação e acreção. O primeiro corresponde à captação inespecífica por forças eletrostáticas entre os iões sobre a superfície do cristal, sendo um processo rápido, reversível e visível nas primeiras horas de exposição a fluoretos. No que respeita a troca, esta é definida como a substituição de iões idênticos, podendo ser dividida em dois tipos: troca isoiónica em que não há alteração da estrutura do cristal (por exemplo substituição de um ião de cálcio por outro ião de cálcio) e troca heteroiónica onde ocorre a alteração das propriedades físicas do cristal (por exemplo substituição de um ião fluoreto por um ião hidroxilo). Relativamente ao mecanismo da recristalização, este consiste num processo lento que abrange uma grande quantidade de iões fluoreto, especialmente num ambiente de pH baixo. Além disso, este processo ocorre aquando da dissolução ácida do cristal na presença de fluoretos, dando-se uma reprecipitação e, deste modo, a formação de fluorhidroxiapatite. No respeitante ao mecanismo da precipitação, dá-se a precipitação de iões de cálcio, fosfato e fluoreto que se encontram presentes no meio imediato, explicando este processo, desta forma, a aplicação do flúor. Por fim, quanto à acreção, neste mecanismo a aquisição de iões fluoretos dá-se no processo da amelogenese.





Figuras 4 e 5-Mecanismos de incorporação do ião fluoreto na hidroxiapatite.

Nesta sequência, as propriedades físicas e químicas do dente modificam-se por meio da fluorapatite ou da hidroxiapatite fluoretada, impedindo a desmineralização e aumentando a remineralização (Duraismy et al., 2015). Deste modo, há a redução da dissolução da apatite e a remineralização da cristalização da mesma/reposição dos minerais que foram perdidos (Roveri et al., 2009). Desta forma é possível inferir que o flúor comporta-se como um meio preventivo complementar com a redução do mineral perdido, agindo como uma barreira à perda de mineral causada pelo processo erosivo (Do Amaral et al., 2016). Ainda assim, para que ocorra a remineralização, o flúor deve possuir uma boa fonte de cálcio e fósforo (Duraismy et al., 2015). Tal é perceptível, visto que o flúor catalisa a difusão do cálcio e do fósforo na superfície do dente permitindo que ocorra a remineralização da estrutura cristalina do dente (Zhou et al., 2012). Num estudo

verificou-se que só aquando da reposição com flúor de 50% dos grupos hidroxilo é que se verificava a estabilidade e uma reduzida energia livre da superfície (Xiaoke Li et al., 2014). Tal estabilidade máxima resulta, visto que a ligação entre o hidrogénio nos iões de flúor e hidróxido é máxima. Assim, a apatite com flúor forma-se quando o grau de substituição de flúor no mineral é inferior ao da fluorapatite (Mohammed et al., 2014).

O flúor pode estar contido nos cristais de esmalte sob a forma solúvel no hidróxido de potássio ou ligado firmemente mas insolúvel no mesmo. O primeiro comporta-se como uma barreira mineral adicional, evitando o contacto direto entre o ácido e o esmalte (Carvalho et al., 2015). Este depósito é continuamente dissolvido pela ação da saliva. Deste modo, o flúor solúvel no hidróxido de potássio sofre um decréscimo bastante acentuado num período de uma semana após a aplicação do agente fluorídrico. A formação do limite estrutural do flúor é dependente do tempo em que o flúor solúvel no hidróxido de potássio é dissolvido de forma a permitir a difusão do mesmo. Segundo Thomas Attin et al., 2007, o limite é alcançável um dia após a utilização de flúor. Deste modo, o limite estrutural do flúor corresponde ao flúor não dissolvido pelo hidróxido de potássio (T. Attin et al., 2005).

Em resumo, o flúor desempenha uma função primordial na remineralização do esmalte. Os iões fluoretos inibem a desmineralização do esmalte e do cimento promovendo a remineralização, sendo este o processo mais importante. Também permite a reparação dos cristais parcialmente dissolvidos (frequentemente os de maior tamanho e menos solúveis que os originais), sendo cruciais nas lesões, visto que se encontram no cristal por troca heteroiónica (detendo-se de um estado de energia menor que a hidroxiapatite e, portanto, menos solúvel). Os fosfatos de cálcio que se formam são todos, praticamente, convertidos a fluorapatite, o que é determinante no processo da remineralização. A constante presença de iões fluoreto na saliva e o pH baixo permite que a fluorapatite se encontre sempre sobresaturada no fluído, possibilitando desta forma a criação de fluorapatite superficial e diminuindo a perda de minerais, nomeadamente na presença de uma maior concentração de iões fluoreto.

A ação dos fluoretos está dependente de 3 aspetos importantes: o tamanho da lesão se for menor e a sua progressão mais lenta devido à permanente inserção de minerais; se

a zona superficial do esmalte se encontra relativamente intacta e de maior grossura que o controlo e se com a remineralização há o aumento da dureza da região superficial (Freyhofer et al. 2010).

Os vernizes de flúor são compostos por uma grande concentração de flúor sob a forma de sal ou uma preparação salina numa solução de álcool baseado em resina (Zhou et al., 2012). Estes permitem um aumento dos reservatórios de fluoreto de cálcio da cavidade oral e consequente solubilização destes com o lançamento de flúor a um pH baixo (Ferreira et al., 2009).

A acumulação de flúor sob esta forma é notória ao nível da placa bacteriana e da saliva (Lenzi et al., 2016). Após a aplicação, a concentração de flúor aumenta nas 12h seguintes e pode aumentar até às 32h. Tal é crucial, pois níveis de flúor a partir de 0,04ppm nos tecidos duros baixam o risco de progressão da desmineralização. A transferência de flúor via salivar é bastante limitada nos locais vizinhos à aplicação. Existe uma certa variedade distributiva do flúor na cavidade oral (não existe uma aplicação direta de flúor nas áreas interproximais, sendo, por isso, a aplicação do verniz de flúor mais limitada nalgumas regiões da dentição), segundo Thomas Attin et al., 2007. Por outro lado, o verniz de flúor atua tanto na superfície como na sub-superfície, sendo este facto crucial na prevenção da erosão dentária (Sar Sancakli et al., 2015).

Em contacto com a saliva, o verniz de flúor endurece (Duraismy et al., 2015).

Existem várias formulações de vernizes de flúor que diferem na deposição do flúor no esmalte a partir dos 50 micras (Sar Sancakli et al., 2015). Os vernizes de flúor mais comuns são o fluoreto de silano 0,1% de ião fluoreto (1000ppm) num veículo de poliuretano e o fluoreto de sódio 0,5% (22600ppm) numa suspensão alcoólica com resinas naturais (Freyhofer et al., 2010). Alguns estudos laboratoriais mostraram que formulações diferentes das de fluoreto de sódio são melhores (Sar Sancakli et al., 2015). *In vitro*, a aplicação tópica de uma solução neutra de fluoreto de sódio a 9500ppm induziu a precipitação de fluoreto de cálcio, que penetrou pela sub-superfície do esmalte e precipitou em 40µm. Desde então este tem sido recomendado para pacientes que têm erosão dentária. Também foi mostrado num estudo que o fluoreto de estanho é eficaz no que respeita a redução da perda de esmalte resultante da erosão (Austin et al., 2011).

Apesar de existirem vários protocolos, o protocolo de aplicação do verniz de flúor ainda não se encontra bem estabelecido (Lenzi et al., 2016). Os vernizes de flúor podem ser aplicados por quadrante, respeitando o protocolo do fabricante. Os dentes devem estar limpos e secos. Em seguida, são pinceladas todas as superfícies e esperam-se alguns

segundos com vista à evaporação do solvente. Após a sua aplicação é necessário ter alguns cuidados tais como evitar a ingestão de sólidos ou líquidos quentes nas 4 horas seguintes e não escovar os dentes pelo menos nas 24 horas seguintes.



Figuras 6 e 7-Aplicação de verniz fluoretado.

Os vernizes devem ser aplicados trimestralmente ou semestralmente, representando uma eficácia de 17%-56% (Freyhofer, Vicente Aránguiz García, Pilar Baca Emilson, Claes-Göran Fredes, Olaya Fernández Soler, Santiago Gómez Traub, Rodrigo Mariño Biermann, Stefania Martignon Calvo, Juan Eduardo Onetto Espinoza, Sergio Uribe Litovsky, Alberto Villa López, 2010). Determinados autores recomendam que as aplicações sejam feitas diariamente ou 4 a 8 aplicações semanalmente ou bissemanalmente. Num estudo, segundo Lenzi et al., 2016, 4 aplicações semanalmente ou 3 aplicações trimestralmente mostraram-se eficazes, contudo outros autores defendem que uma só aplicação do verniz de flúor já permite prevenir de certa forma o dente de um potencial processo erosivo (Sar Sancakli et al., 2015).

Tal como todos os produtos, os vernizes de flúor detêm as suas vantagens e inconvenientes. No que respeita as vantagens, os vernizes permitem que haja um grande contacto entre os fluoretos e o esmalte sob a forma de fluoreto de cálcio, otimizando-se através do meio salivar, que por possuir um pH neutro inibe a dissolução das fosfatases e proteínas (caso existisse um pH ácido levariam à dissolução do fluoreto de cálcio) e do biofilme dentário (Freyhofer et al., 2010). Além disso, a presença de uma película proteica e fosfato permite a prolongação da sua retenção na superfície do esmalte (Zhou et al., 2012).

Estudos realizados com o intuito de quantificar as proteínas que em maior abundância participavam no ganho e perda de mineral mostraram que as mucinas (MUC7 e MUC5B) se apresentavam em maior abundância, sendo que foram consideradas a estrutura major da película adquirida (barreira que se comporta como mecanismo preventivo do contacto do ácido com o esmalte). É também de referir a importância das

proteínas da saliva na erosão (Algarni et al., 2015). Estas alongam o contacto entre o esmalte e o flúor durante longos períodos de tempo (12 horas ou mais) por meio de uma fina camada, inibindo a perda imediata do flúor logo após a sua aplicação e formando assim um reservatório de flúor. Além disso, os vernizes de flúor são seguros, bem aceites pelo paciente e de fácil aplicação (Duraismy et al., 2015). De uma forma geral, os vernizes de flúor necessitam de poucas aplicações (3-6 meses por ano) e lançam flúor durante a sua dissolução na cavidade oral (T. Attin et al., 2005). Assim, a associação do flúor de baixa frequência e alta concentração de aplicação profissional tem sido ditada (Lenzi et al., 2016). É também importante salientar que a associação do flúor com o glicerofosfato de cálcio permite um efeito cumulativo, aumentando o efeito protetor do esmalte ao ataque ácido (Carvalho et al., 2015). Os vernizes de flúor em conjunto com outras estratégias preventivas permitem a proteção do esmalte em pacientes portadores de deficiências motoras e com deficiente educação para a higiene (Perrini et al., 2016). Relativamente aos inconvenientes, os vernizes de flúor para além de serem materiais de alto custo, tem que ser aplicados por um profissional e a sua relação custo-efetividade é superior quando comparada com a aplicação de selantes (Freyhofer et al., 2010).

A eficiência da remineralização dos materiais dentários que lançam flúor está dependente de vários fatores: o tipo e concentração de flúor, os mecanismos, o método dispensador e os outros componentes que fazem parte constituinte desses mesmos materiais (Zhou et al., 2012). Além disso, também a disponibilidade de flúor é fulcral na deposição do mesmo e na dureza do dente (T. Attin et al., 2005). Ainda assim, é perceptível que o efeito preventivo do flúor é mais efetivo aquando da utilização de concentrações altas de flúor, visto que a sua adesão à superfície do esmalte providencia mais tempo para a formação do fluoreto de cálcio (Carvalho et al., 2015).

Em modo conclusivo, o flúor comporta-se como um agente efetivamente remineralizador do esmalte, reagindo com a apatite no sentido de produzir fluorapatite (componente mais forte e mais ácido-resistente que a hidroxiapatite natural) (Xiang et al., 2013).

A saliva natural é uma variável biológica de elevada importância no mecanismo da erosão dentária. Vai atuar diretamente no agente erosivo, diluindo ou neutralizado e tamponizando os ácidos. Forma uma fina película que protege a superfície do esmalte atuando como uma barreira/membrana de difusão seletiva permeabilizável o que previne o contacto direto dos ácidos com a superfície dos dentes. Uma vez que na sua constituição

existem íons de cálcio e fosfato esta vai comportar-se como um reservatório natural de recrescimento da apatite e ou nucleação de novos nano-cristais (X. Wang et al., 2011).

A saliva possui uma capacidade protetora, que é essencial na patologia de erosão dentária, visto que contém cálcio, fosfato e flúor. Em caso de se encontrar supersaturada restabelece mineralmente a erosão inicial (Ionta et al., 2014). Deste modo, a saliva artificial apenas tem capacidade para atuar na erosão inicial (Zheng et al., 2011). Além disso, é responsável pela formação da película adquirida, que permite a diminuição do contacto direto com o dente, comportando-se como um agente diluidor dos ácidos. Num estudo, todas as formulações de salivas artificiais mostraram que existe remineralização do esmalte aquando da comparação com o controlo negativo (água desionizada). O facto de ser comparada com a água desionizada permite perceber a capacidade de remineralização da saliva artificial aquando da erosão inicial (Ionta et al., 2014). Zheng et al., 2011 demonstraram que as propriedades nanomecânicas e microtribiológicas da superfície remineralizada com saliva artificial eram melhores que na superfície erodida, sendo que a dureza e o módulo de Young aumentaram passadas 12h da remineralização com essa saliva comparativamente a 10 minutos de desmineralização. Ainda assim, ocorreu uma perda ao nível da dureza e módulo de Young relativamente à superfície original, permitindo aferir que apesar de ocorrer remineralização com a saliva artificial, esta é apenas parcial. Neste contexto, foi perceptível que neste estudo o volume de desgaste da superfície diminuiu aquando da comparação com a superfície erodida, no entanto esse volume é 4 vezes maior relativamente à superfície original (Zheng et al., 2011). Desta forma, a remineralização com saliva artificial, apenas permite um leve aumento da nanodureza, sendo que o módulo de elasticidade subiu de 82958-13683 GPa (desmineralização) para 22275 GPa (Chung & Huang, 2013). No entanto, segundo X. Wang et al., 2011, a saliva artificial não teve nenhum efeito protetor e as alterações provocadas pelo ácido continuaram, ocorrendo apenas uma recuperação atómica parcial dos minerais do esmalte, não conseguindo prevenir alterações irreversíveis da erosão numa camada de 700nm. Através deste estudo, é possível entender que a saliva artificial apenas estabilizou a parte atómica e favoreceu o reaparecimento de regiões espaciais com defeitos ao nível da apatite, não participando no processo desmineralização/remineralização. Também foi possível reparar que o efeito da saliva era notório a partir das 24h. Assim, quanto maior a quantidade de ácido, maior o dano provocado no esmalte, não podendo ser recuperado pela saliva (X. Wang et al., 2011). Os cristais que crescem após a remineralização com saliva artificial (são observados cristais

de hidroxiapatite) são distintos dos originais (essencialmente cristais de hidroxiapatite orientados segundo o eixo axial), não existindo uma orientação preferencial. Por outro lado, a cristalinidade obtida será menor à da superfície original. Assim sendo, pelo facto dos depósitos de remineralização serem desiguais e mais ásperos, o coeficiente de fricção é maior, levando a que os depósitos minerais sejam mais facilmente desgastados comparativamente à superfície original. O crescimento dos cristais está dependente do estado da interface, do vórtex, da temperatura, da viscosidade e da taxa de cristalização (Zheng et al., 2011). Os substitutos salivares são geralmente administrados se a estimulação do fluxo salivar não for possível. Estes diferem essencialmente ao nível da espessura, da composição química e da viscosidade com o intuito primário de lubrificação da cavidade oral. Deste modo, a saliva artificial tem sido eficaz no que concerne aos sintomas subjetivos da hipossalivação. O uso regular destes substitutos em nada afeta negativamente a saúde oral (Tschoeppe & Meyer-Lueckel, 2011). Soluções saturadas de flúor promovem a remineralização. Já soluções subsaturadas promoverão a desmineralização (Mohammed et al., 2014). O facto de existirem pequenos péptidos, que são a base da fosfoproteína da dentina e que constituem repetidas sequências tripéptidas aspartato-serina-serina permite a captura de iões de cálcio e fosfato que se encontram livres na saliva artificial, formando, deste modo, uma nova camada mineral no esmalte que se encontra desmineralizado. Desta forma, as sequências atrás referidas possuem uma alta afinidade pela hidroxiapatite e promovem a deposição de fosfato de cálcio mineral, favorecendo as propriedades nanomecânicas e de remineralização do esmalte que sofreu erosão (Chung et al., 2012). Assim, enquanto na presença de péptidos, os poros são totalmente remineralizados, na presença apenas de saliva artificial, este facto não acontece. Tal verifica-se, pois os iões da saliva artificial são atraídos à hidroxiapatite devido à carga elétrica num sistema não controlado por péptidos e os péptidos são atraídos por meio da carga funcional dos grupos. Deste modo, ambos interrelacionam-se (Chung & Huang, 2013). No que respeita à mucina, esta em nada afeta a capacidade de remineralização da saliva artificial. A presença de glicoproteínas apesar de aumentar a viscosidade da saliva artificial afeta a difusão dos minerais (Ionta et al., 2014). Ainda assim, a saliva artificial contribui de forma menor para a remineralização comparativamente aos fluidos corporais (Chung et al., 2012). *In vitro*, é favorável a execução de testes com a saliva, visto que têm um baixo custo, não se depende de outrem e não é necessário um longo período de tempo. No entanto, possuem algumas desvantagens, das quais se destaca a ausência da componente biológica – saliva natural

que contém os componentes orgânicos e inorgânicos essenciais. Em estudos *in vitro* em que a saliva tem que ser estimulada torna-se difícil (Ionta et al., 2014).

Desta forma é possível perceber que a remineralização dá-se preferentemente associando os substitutos salivares à aplicação tópica de flúor (Tschoppe & Meyer-Lueckel, 2011).

C) Teste de microdureza do esmalte

O efeito do verniz de flúor no esmalte é normalmente analisado através de dois testes: análise das alterações ao nível da dureza e da profilometria (alterações no peso e volume perdido) (Sar Sancakli et al., 2015).



Figura 8-Microdurómetro.

A determinação da dureza do esmalte é um indicador crucial que tem vindo a ser cada vez mais utilizado (Norma ISO/TS 14569-2-2001) (Xin Li et al., 2013; Specification, 2012). Deste modo, a microdureza é um método aceite na avaliação da desmineralização e remineralização do esmalte (Alsayed et al., 2016).



Figura 9-Penetrador e lentes de aumento para determinação da microdureza.

carga, que o material oferece à penetração de uma pirâmide de diamante de base quadrada e ângulo entre faces no valor de 136°. O valor de dureza consiste no quociente da carga aplicada pela área de impressão deixada na amostra. “Assim, a

máquina que faz o ensaio Vickers não fornece o valor da área de impressão da

pirâmide, mas permite obter, por meio de um microscópio acoplado, as medidas de duas diagonais formadas pelos vértices opostos da base da pirâmide”. As impressões formadas são bastante pequenas e, maioritariamente, não inutilizam as peças, mesmo as acabadas. A indentação fica marcada em cada amostra através de um losango regular. O penetrador, por ser de diamante, é quase indeformável. Este ensaio aplica-se a materiais de qualquer espessura, podendo ser utilizado para medir durezas superficiais (Habitante et al., 2014).

In vitro, é considerado o *gold standard* para detetar mais cedo as lesões de erosão no esmalte, já que *in vivo* não é possível, sendo importante notar as alterações texturais durante a desmineralização erosiva e a remineralização (Austin, Giusca, Macaulay, Moazzez, & Bartlett, 2016). Estes testes são fáceis, rápidos e requerem apenas uma fina superfície para ser testada (Strnad & Buka, 2014). No entanto, a indentação tem desvantagens relativamente ao método convencional da microdureza: a sua alta resolução de força exercida e a posição precisa dos pontos (Alsayed et al., 2016).

Esta técnica tem sido considerada, ainda assim, sensível às alterações da dureza nas diferentes regiões do esmalte, no que respeita ao estudo ao nível da desmineralização dentária. Também a avaliação da microdureza permite obter informação acerca dos próprios benefícios do esmalte e dos variados materiais que se comportam como capa relativamente a este (Alsayed et al., 2016).

D) Pertinência do estudo

O consumo de refrigerantes e bebidas energéticas tem vindo a aumentar nas variadas faixas etárias, promovendo a incidência de casos de erosão dentária. Neste sentido, é cada vez mais relevante ter em conta os variados métodos de remineralização dentária.

E) Objetivos

*Avaliar o efeito do uso de uma pasta dentífrica à base de Vidro bioativo, sobre o esmalte erodido no que diz respeito à microdureza de superfície e análise microscópica de superfície, na presença de água desionizada e de saliva artificial;

*Avaliar o efeito do uso de uma pasta dentífrica à base de Vidro bioativo, sobre o esmalte erodido no que diz respeito à microdureza de superfície e análise microscópica de superfície, quando se aplica um verniz de fluor, na presença de água desionizada e de saliva artificial.

F) Hipóteses

*Existem diferenças significativas na microdureza de superfície da amostra, quando se aplica apenas uma pasta dentífrica à base de vidro ativo ou quando se aplica uma pasta dentífrica à base de vidro bioativo, combinada com um tratamento de verniz de flúor, nos grupos de estudo;

*Existem diferenças microscópicas qualitativas na amostra de esmalte erodido, quando se aplica apenas uma pasta dentífrica à base de vidro ativo ou quando se aplica uma pasta dentífrica à base de vidro bioativo, combinada com um tratamento de verniz de flúor, nos grupos de estudo.

II) MATERIAIS E MÉTODOS

A) Desenho do estudo e local do estudo

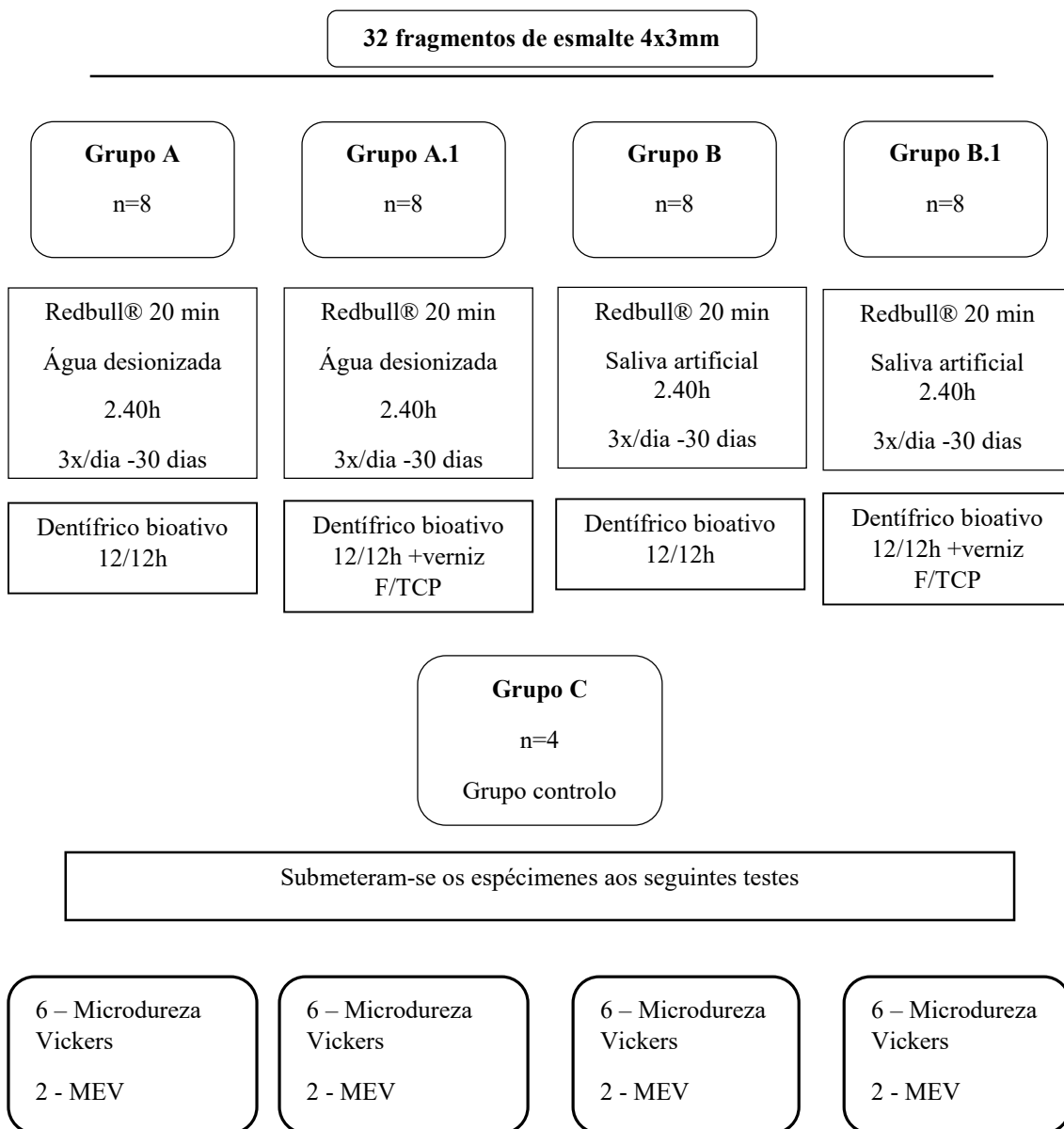


Figura 10-Desenho de estudo.

O estudo ocorreu no Laboratório de Biomateriais do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz. No que respeita a Microscopia Electrónica de Varrimento, foi realizada no MicroLab –Laboratório de Microscopia Eletrónica do Instituto Superior Técnico, da UTL. O estudo foi efetuado entre Abril e Setembro de 2016.

B) Considerações éticas

O estudo foi submetido à Comissão de Ética para a Saúde da Egas Moniz. Os dentes foram fornecidos pelo banco de dentes da Clínica Universitária Egas Moniz.

C) Tipo de estudo e Seleção da amostra

Foi realizado um estudo observacional e analítico em 8 molares humanos intactos, livres de cáries e fraturas. Os dentes hígidos, estavam preservados numa solução diluída de Cloramina T a 0,5% e água desionizada a 5°C, durante 6 meses até à data da sua utilização. Estes foram obtidos de sujeitos anónimos e fornecidos pelo Banco de Dentes da Clínica Universitária Egas Moniz. Posteriormente foi efetuada uma avaliação, com uma lupa estereoscópica LeicaTM MZ6 (Leica, Germany).

Os 8 molares foram subdivididos em 32 fragmentos de esmalte de 4x3mm que foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos de observação (Norma ISO/TS 11405, 2003) (Specification, 2012).

1- Critérios de inclusão e de exclusão

Critérios de inclusão: dentes íntegros, não cariados, livres de fraturas e sem terem alterações de superfícies expostas a tratamentos químicos ou mecânicos, à exceção dos contemplados na higiene dentária dos indivíduos.

Critérios de exclusão: dentes com malformações, não íntegros, anteriormente submetidos a tratamentos químicos (branqueamento, entre outros), mecânicos (tratamento ortodôntico prévio, ou outros), ou electromagnéticos (radiação laser).

D) Aleatorização da amostra

Os elementos da amostra foram aleatoriamente alocados num grupo controlo (Grupo C) e em quatro grupos de estudo (Grupo A; A.1; B; B.1) através do software Excel (função ALEATÓRIOENTRE).

E) Preparação da amostra

Inicialmente, foram retirados com curetas de gracey os tecidos e tártaro das superfícies dentárias (Caneppele, Jeronymo, Di Nicoló, de Araújo, & Soares, 2012). Em seguida, cada um dos dentes foi cortado no sentido mesio-distal, perpendicularmente ao plano oclusal, obtendo-se um fragmento lingual e outro vestibular (Jayaranjan, J., Janardhanam, P., Jayakumar, 2011). A cada fragmento vestibular e lingual foram removidas as raízes, seccionando-se 1mm abaixo da JAC (junção amelo-cementária) perpendicularmente ao longo eixo do dente (Caneppele et al., 2012; Mohanty, 2014). Daí,

foi realizado um corte 4mm (altura) acima dessa mesma linha. Dos fragmentos obtidos, no sentido vestibulo-lingual, perpendicularmente ao plano oclusal, foram efetuados 3 cortes de forma a obter-se 2 fragmentos com 3mm (largura).

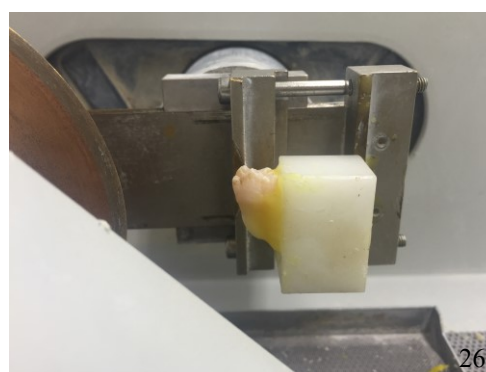
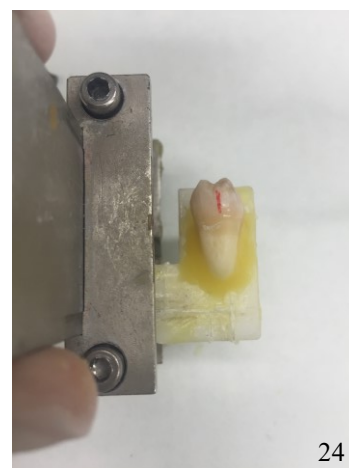
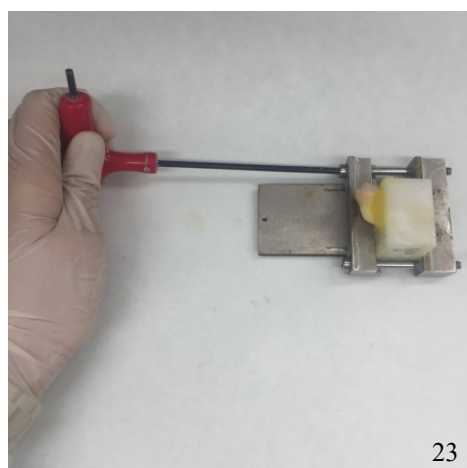
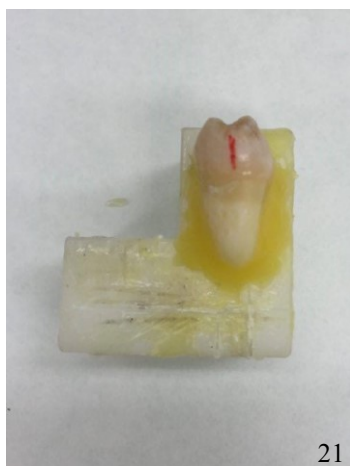
Após terem sido obtidos os fragmentos, as superfícies destes foram polidas com discos Struers™ FEPA paper de granulometria: 320, 600, e 1200 grits (Mathews et al., 2011; Tanaka et al., 2013).

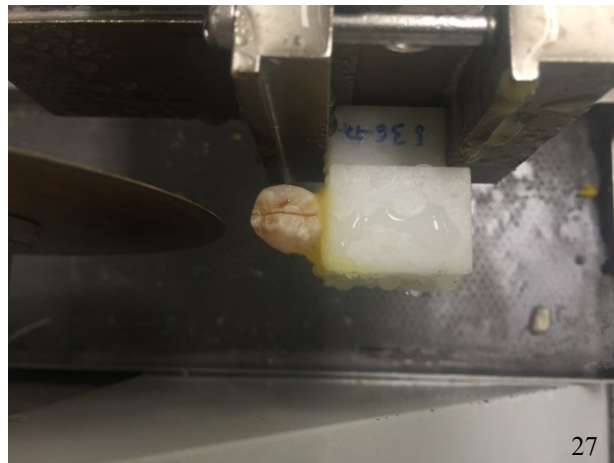


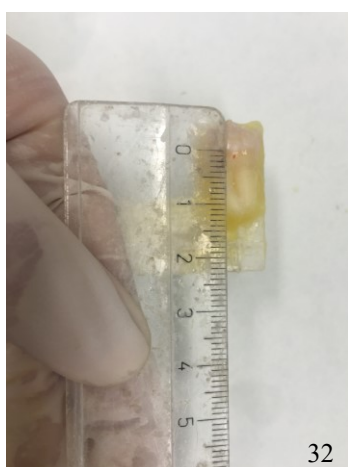
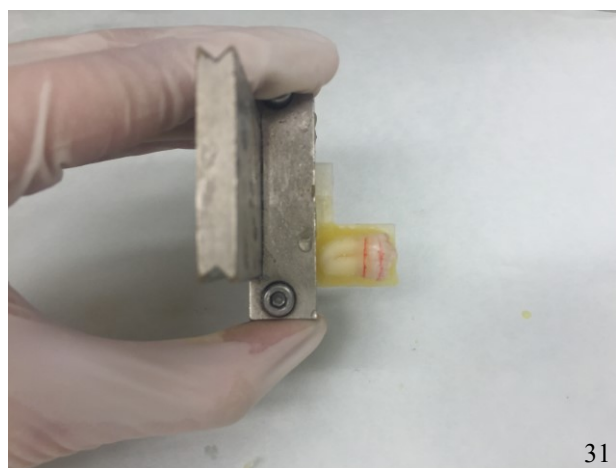
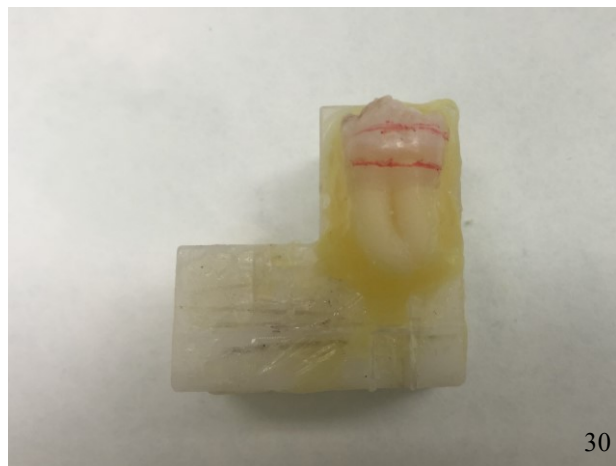


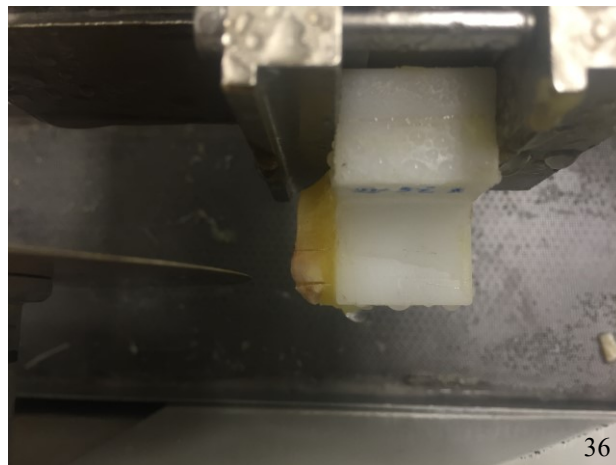
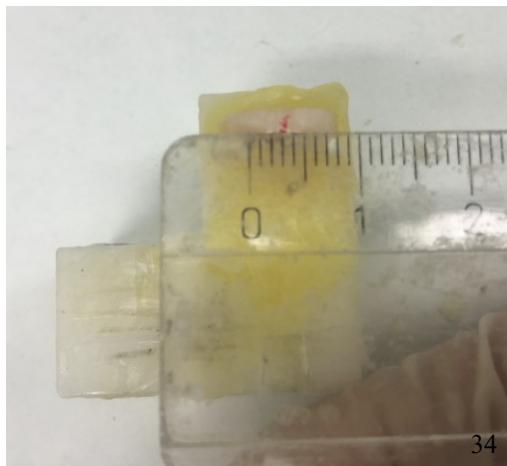
Figuras 11, 12, 13, 14 e 15-Limpeza dos dentes com cureta de gracey.

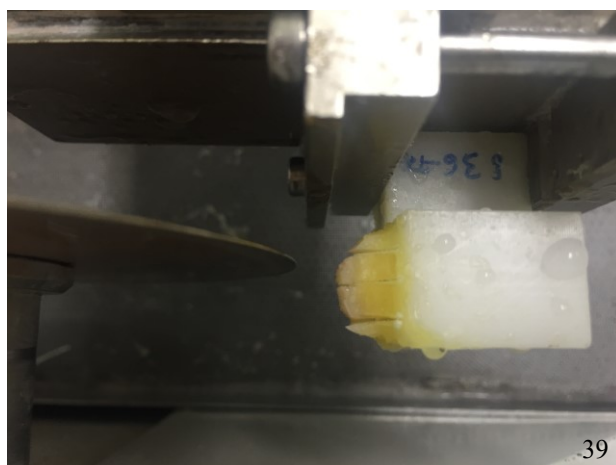
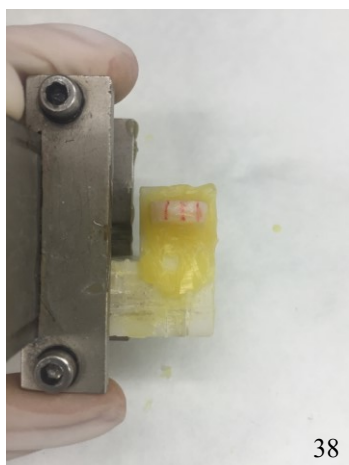












Figuras 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38 e 39-Etapas de corte das amostras.



Figura 40-Polimento das amostras.

F) Saliva Artificial-formulação

0,02 mM de Na₂S•9H₂O (sulfito de sódio nano-hidratado), 6,84 mM de NaCl (cloreto de sódio), 5,36 mM de KCl (cloreto de potássio), 4,42 mM de NaH₂PO₄•2H₂O (di-hidrogenofosfato de sódio di-hidratado), 16,65 mM de Ureia, 1,80 mM de CaCl₂ (cloreto de cálcio) e 1000 mL de água desionizada (Urban et al., 2009), apresentando um pH entre 6,9 e 7.

G) Verniz de Flúor-formulação

Verniz de flúor (Clinpro TM White Varnish), que consiste numa solução de resinas modificadas à base de álcool, possuindo fluoreto de sódio, xilitol, fosfato tricálcio (TCP).

H) Caraterização da bebida com potencial erosivo

Redbull®, que possui os seguintes componentes: água, sacarose, glucose, regulador de acidez (citratos de sódio, carbonato de magnésio), dióxido de carbono, acidificante ácido cítrico, taurina (0,4%), cafeína (0,03%), inositol, vitaminas (niacina, ácido pantoténico, B6, B12), aromas, corantes (caramelo, riboflavina).

I) Grupos de estudo e Grupo controlo - Processo de desmineralização e remineralização

Grupo C (n=4) – grupo controlo – Todos os espécimes estiveram submersos em água desionizada sem sofrerem qualquer desafio erosivo ou remineralizador. 2 espécimes foram submetidos ao teste de dureza Vickers e 2 à Microscopia Electrónica de Varrimento (MEV).

Grupo A (n=8) – grupo de estudo (n=8) – Todos espécimes, sofreram um desafio erosivo com Redbull® de 3 x 20 minutos/dia, com intervalo de 2 horas e 40 minutos, durante 30 dias. No intervalo os espécimes foram submersos em água desionizada. Além do procedimento atrás descrito, os espécimes foram escovados com escova elétrica, 2 vezes ao dia, com intervalos de 12 h, com uma pasta dentífrica à base de um vidro bio-ativo. 6 Espécimes serão submetidos ao teste de dureza Vickers, 2 a Microscopia Eletrónica de Varrimento (MEV).

Grupo A.1 (n=8) – grupo estudo (n=8) – Todos espécimenes, sofreram um desafio erosivo com Redbull®, de 3 x 20 minutos/dia, com intervalo de 2 horas e 40 minutos, durante 30 dias. No intervalo os espécimenes foram submersos em água desionizada. Além do procedimento atrás descrito, os espécimenes foram escovados com escova elétrica, 2 vezes ao dia, com intervalos de 12 h, com uma pasta dentífrica à base de um vidro bio-ativo. Posteriormente foi aplicado um Verniz de Fluor, Clinpro™ White Varnish, 3M ESPE, Neuss, Alemanha, lote: N604384 e validade: 08/2016), sobre a superfície do esmalte. O verniz de flúor será aplicado da seguinte forma: os fragmentos eram retirados do meio em que se encontravam, lavados com água desionizada, secos com compressas e spray de ar, pincelados com o verniz atrás mencionado e novamente colocados no seu meio. 6 Espécimenes foram submetidos ao teste de dureza Vickers, 2 a Microscopia Electrónica de Varrimento (MEV).

Grupo B (n=8) – grupo de estudo (n=8) – Todos espécimes, sofreram um desafio erosivo com Redbull® de 3 x 20 minutos/dia, com intervalo de 2 horas e 40 minutos, durante 30 dias. No intervalo os espécimenes foram submersos em saliva artificial. Além do procedimento atrás descrito, os espécimenes foram escovados com escova elétrica, 2 vezes ao dia, com intervalos de 12 h, com uma pasta dentífrica à base de um vidro bio-ativo. 6 espécimenes foram submetidos a teste de dureza Vickers, 2 a Microscopia Electrónica de Varrimento (MEV).

Grupo B.1 (n=8) – grupo de estudo (n=8) – Todos os espécimenes, sofreram um desafio erosivo com Redbull® de 3 x 20 minutos/dia, com intervalo de 2 horas e 40 minutos, durante 30 dias. No intervalo os espécimenes foram submersos em saliva artificial. Além do procedimento atrás descrito, os espécimenes foram escovados com escova elétrica, 2 vezes ao dia, com intervalos de 12 h, com uma pasta dentífrica à base de um vidro bio-ativo. Posteriormente foi aplicado um Verniz de Fluor, Clinpro™ White Varnish, 3M ESPE, Neuss, Alemanha, lote: N604384 e validade: 08/2016), sobre a superfície do esmalte. O verniz de flúor foi aplicado da seguinte forma: os fragmentos eram retirados do meio em que se encontravam, lavados com água desionizada, secos com compressas e spray de ar, pincelados com o verniz atrás mencionado e novamente colocados no seu meio. 6 Espécimenes foram submetidos a teste de dureza Vickers, 2 a Microscopia Electrónica de Varrimento (MEV).

Todos os grupos de estudo, enquanto se encontravam no seu respetivo meio, permaneciam numa estufa a 37°C. Todos os fragmentos, de cada grupo, foram lavados com água desionizada após as seguintes situações: escovagem e remoção do Redbull®. Também a própria escova elétrica entre escovagens foi lavada com água desionizada. Entre cada intervenção, o meio de imersão dos fragmentos foi sempre trocado por um novo meio do mesmo tipo.

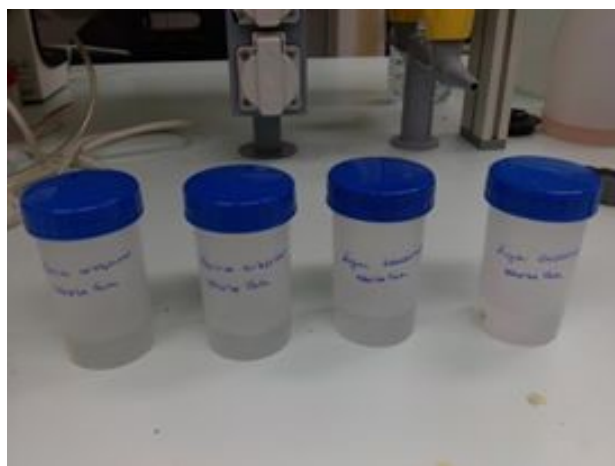


Figura 41-Grupos de estudo.



Figura 42-Estufa a 37°C.



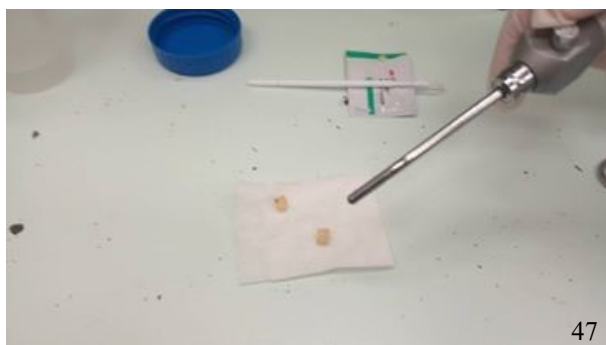
Figura 43-Lavagem dos fragmentos.

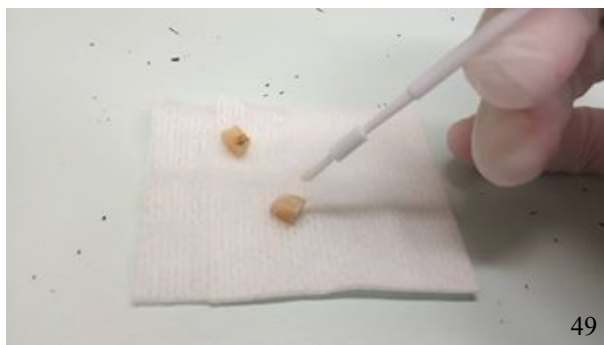


Figura 44-Processo de desmineralização.



Figura 45-Escovagem das amostras.





Figuras 46, 47 e 48-Processo de aplicação do verniz de flúor.

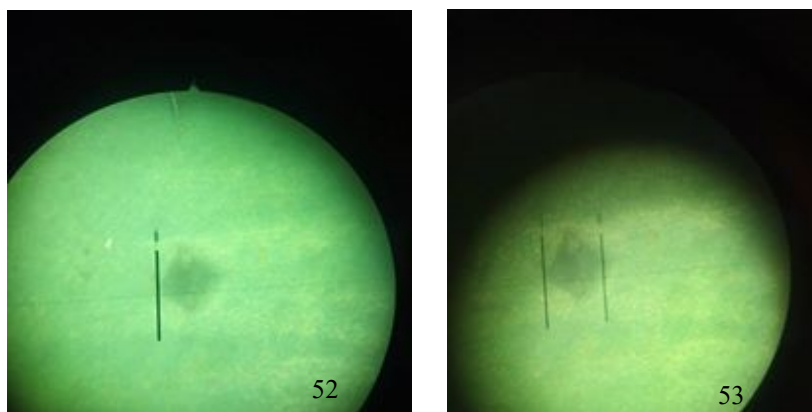
J) Análise da superfície do esmalte

1- Teste de Microdureza de Vickers

À superfície de 6 fragmentos de cada grupo de estudo, foi medida a microdureza através do teste de Vickers com uma carga de 25gf aplicada durante 15 segundos. Foram efetuadas 5 indentações, em cada espécimen, de forma a obter-se a média e o desvio padrão da microdureza de Vickers na superfície do esmalte. 2 fragmentos, que não serão submetidos a qualquer intervenção, foram submetidos também a este teste. É de salientar que a microdureza da superfície do esmalte será medida 24 horas após a aplicação do verniz de flúor.

A superfície de 2 espécimenes de cada grupo será observada através da microscopia eletrónica de varrimento.





Figuras 49, 50, 51 e 52-Teste da microdureza de Vickers.

2- Observação ao Microscópio Eletrônico de Varrimento

As amostras foram colocadas sobre fita autocolante dupla-face de carbono (condutora). Em seguida, foi depositado um filme fino (apx 20nm de espessura) de Au/Pd, por sputtering, num equipamento da Quorum Technologies, modelo Q150T ES. As amostras foram depois observadas num SEM da Hitachi, modelo S2400 nas ampliações de 1000x, 5000x e 10000x, utilizando uma tensão de aceleração de 20 kV, cujas imagens foram adquiridas com o software Esprit 9.1 da Bruker.

K) Análise estatística

Foram efetuados os requisitos para aplicação do teste paramétrico ANOVA e homogeneidade da amostra. Seguidamente, efetuou-se uma ANOVA one-way e testes post-hoc, onde foi selecionado o teste de Bonferroni devido ao tamanho amostral ser reduzido. 95% Confidence Interval, para um nível de significância de $p < 0.05$.

III) RESULTADOS

A) Microdureza de Vickers

Com o objetivo de comparar as diferenças entre os diversos grupos, foram utilizados testes de Microdureza de Vickers. Através destes é possível a análise da desmineralização e remineralização do esmalte por meio de comparação com um grupo controlo (Grupo C).

	N	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	95% Intervalo de Confiança de Média		Mínimo	Máximo
					Limite mínimo	Limite máximo		
Grupo C	2	436,12	40,84	28,88	69,16	803,07	407,24	465,00
Grupo A	6	502,63	50,24	20,51	449,90	555,36	449,40	583,00
Grupo A.1	6	577,43	43,36	17,70	531,92	622,94	523,00	651,80
Grupo B	6	650,16	14,45	5,90	634,99	665,33	625,60	668,00
Grupo B.1	6	646,56	19,74	8,06	625,84	667,28	622,60	672,00
Total	26	582,04	80,01	15,69	549,72	614,35	407,24	672,00

Tabela 2-Resumo dos resultados obtidos.

Através da tabela 2, é perceptível que o grupo C (grupo controlo) obteve uma média de microdureza inferior a todos os outros grupos de estudo. Também é notória a diferença entre os grupos A e A.1 (médias inferiores), cujo meio utilizado foi a água desionizada, e os grupos B e B.1 (médias superiores), em que o meio foi saliva artificial. Entre os grupos A e A.1, cuja diferença se baseava na utilização de verniz de flúor ao fim de um mês de desmineralização, o grupo com aplicação desse mesmo verniz (Grupo A.1) ostentou valor de média de microdureza superior. O grupo B.1 apresenta valor de média inferior quando comparado com o grupo B.

	Casos					
	Validade		Ausências		Total	
Grupos	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Grupo C	2	100,0%	0	0,0%	2	100,0%
Grupo A	6	100,0%	0	0,0%	6	100,0%
Grupo A.1	6	100,0%	0	0,0%	6	100,0%
Grupo B	6	100,0%	0	0,0%	6	100,0%
Grupo B.1	6	100,0%	0	0,0%	6	100,0%

Tabela 3-Resumo do processamento do caso.

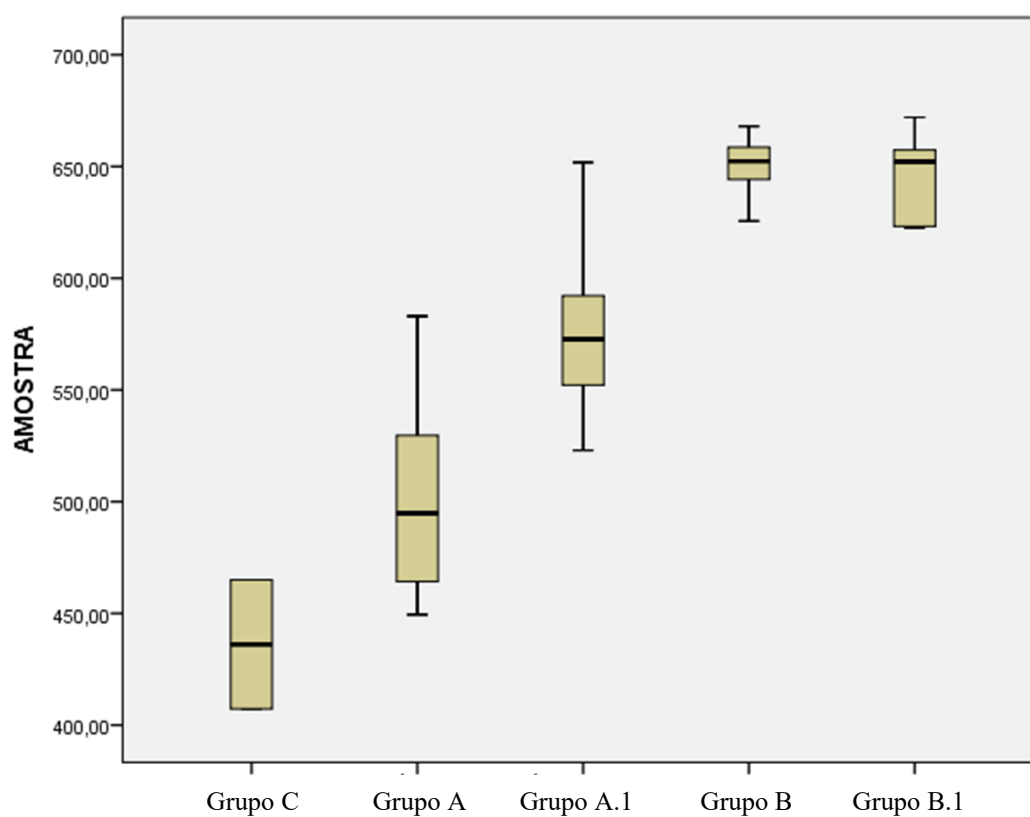


Figura 53-Resumo do processamento do caso.

Para a realização do Teste ANOVA, as amostras têm que ser independentes (o que se confirma), normais e homogêneas.

Testes de Normalidade

	Grupos	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estatística	df	Sig.	Estatística	df	Sig.
Amostra	Grupo C	,260	2	.			
	Grupo A	,226	6	,200	,928	6	,562
	Grupo A.1	,200	6	,200	,949	6	,729
	Grupo B	,173	6	,200	,958	6	,807
	Grupo B.1	,252	6	,200	,887	6	,305

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tabela 4-Testes da Normalidade.

As amostras são normais.

Teste da Homogeneidade de Variâncias

Amostra			
Estatística de Levene	df1	df2	Sig.
2,352	4	21	,087

Tabela 5-Teste da Homogeneidade de Variâncias.

As variâncias não diferem significativamente entre os grupos. As variâncias são portanto homogêneas.

ANOVA

Amostra					
	Soma dos quadrados	df	Média do quadrado	F	Sig.
Entre grupos	133374,734	4	33343,683	26,237	,000
Dentro dos grupos	26688,642	21	1270,888		
Total	160063,376	25			

Tabela 6-Teste da ANOVA.

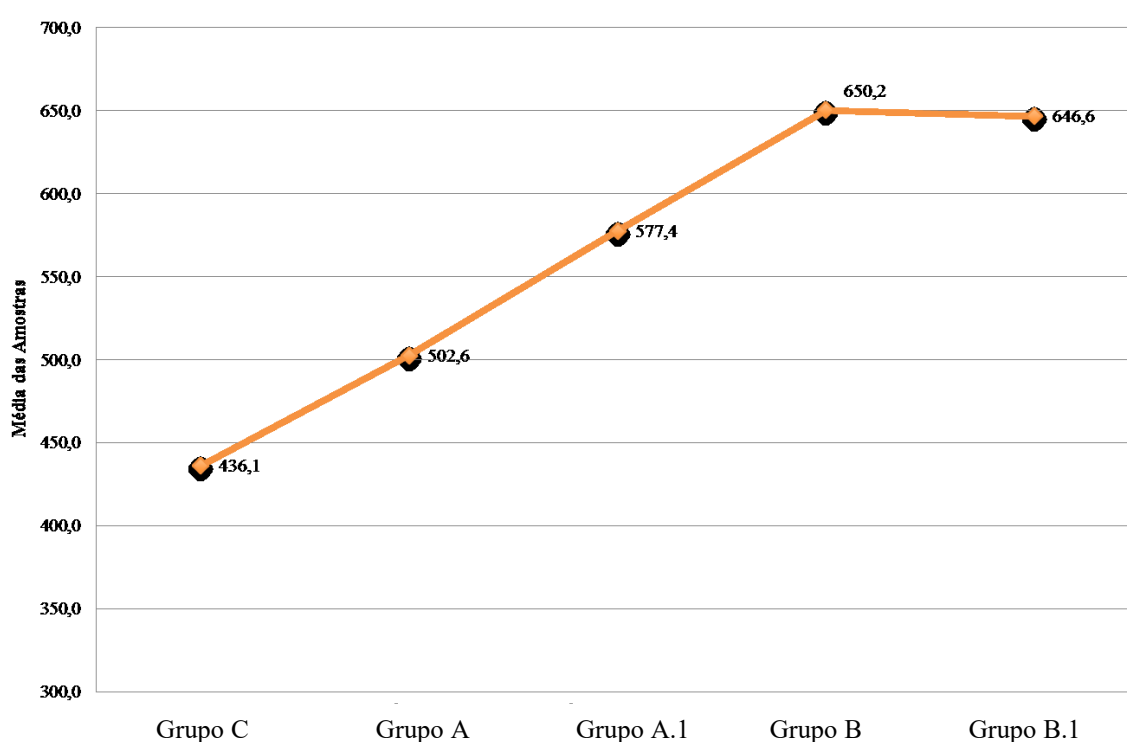


Figura 54-Teste da ANOVA.

De acordo com a tabela anterior, $F(4,21) = 26.237$, $p < 0.01$, pode concluir-se que existem diferenças entre as amostras. Uma vez que foram detetadas diferenças, podemos aplicar um teste de comparação múltipla, que permite comparar pares de amostras. Para o efeito, foram utilizados os testes *post-hoc* e escolhido o teste de Bonferroni, visto que as amostras são pequenas.

Comparações Múltiplas

Variável Dependente: Amostra

Bonferroni

(I) Grupos	Grupos (J)	Média das Diferenças* (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Intervalo de Confiança	
					Limite Inferior	Limite Superior
Grupo C	Grupo A	-66,51333	29,10770	,328	-157,7720	24,7453
	Grupo A.1	-141,31333*	29,10770	,001	-232,5720	-50,0547
	Grupo B	-214,04667*	29,10770	,000	-305,3053	-122,7880
	Grupo B.1	-210,44667*	29,10770	,000	-301,7053	-119,1880
Grupo A	Grupo C	66,51333	29,10770	,328	-24,7453	157,7720
	Grupo A.1	-74,80000*	20,58226	,016	-139,3296	-10,2704
	Grupo B	-147,53333*	20,58226	,000	-212,0629	-83,0037
	Grupo B.1	-143,93333*	20,58226	,000	-208,4629	-79,4037
Grupo A.1	Grupo C	141,31333*	29,10770	,001	50,0547	232,5720
	Grupo A	74,80000*	20,58226	,016	10,2704	139,3296
	Grupo B	-72,73333*	20,58226	,020	-137,2629	-8,2037
	Grupo B.1	-69,13333*	20,58226	,030	-133,6629	-4,6037
Grupo B	Grupo C	214,04667*	29,10770	,000	122,7880	305,3053
	Grupo A	147,53333*	20,58226	,000	83,0037	212,0629
	Grupo A.1	72,73333*	20,58226	,020	8,2037	137,2629
	Grupo B.1	3,60000	20,58226	1,000	-60,9296	68,1296
Grupo B.1	Grupo C	210,44667*	29,10770	,000	119,1880	301,7053
	Grupo A	143,93333*	20,58226	,000	79,4037	208,4629
	Grupo A.1	69,13333*	20,58226	,030	4,6037	133,6629
	Grupo B	-3,6000	20,58226	1,000	-68,1296	60,9296

*. A média de diferenças é significativa a 0,05.

Tabela 7-Teste de Bonferroni.

Os resultados indicam que:

*A média das amostras do Grupo C não difere estatisticamente da média das amostras do Grupo A;

*A média das amostras do Grupo A.1 é diferente de todas as outras (superior aos Grupos A e C e inferior aos Grupos B e B.1);

*A média das amostras do Grupo B não difere estatisticamente da média das amostras do Grupo B.1.

B) Microscopia Eletrônica de Varrimento

Foi realizada uma observação através de Microscópio Eletrônico com o intuito de analisar a organização e desorganização do esmalte e consequente homogeneidade e heterogeneidade.

Grupo A

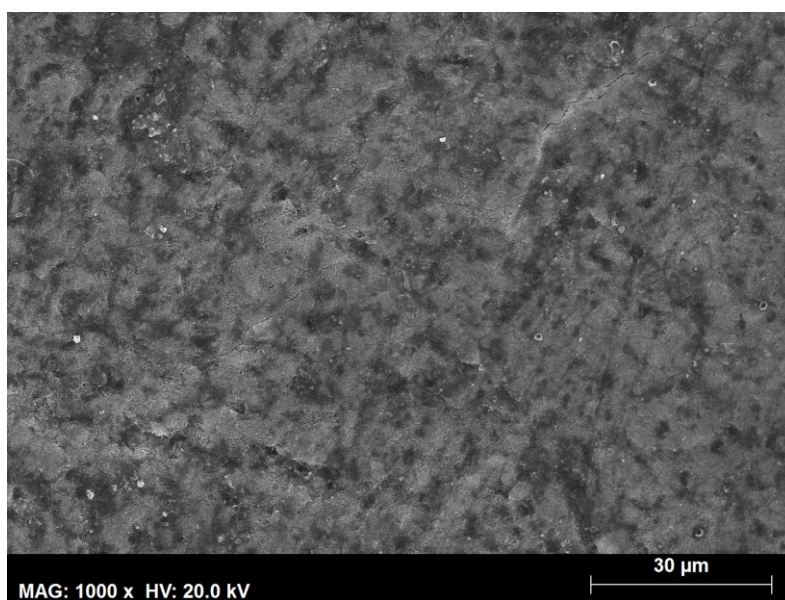


Figura 55-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 1000x. É observada uma desorganização do esmalte.

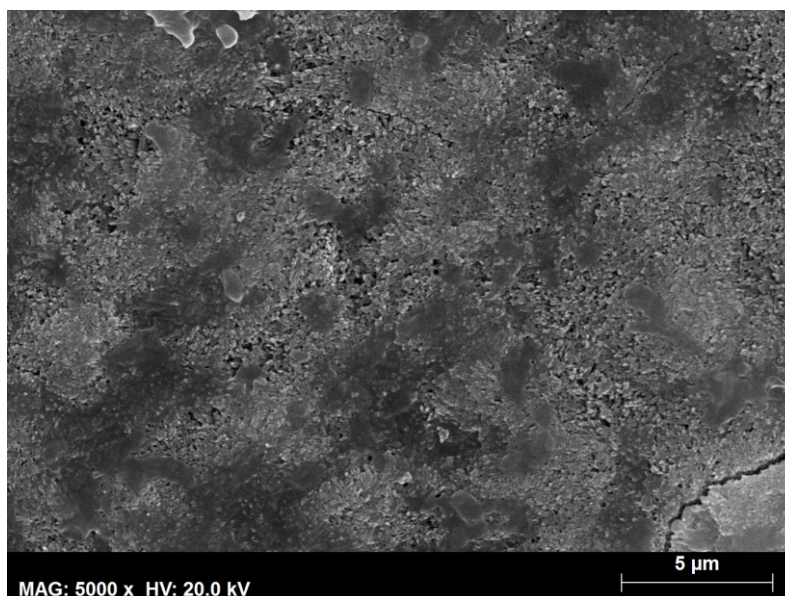


Figura 56-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 5000x. É observada uma desorganização do esmalte e separação dos prismas com zonas mais heterogêneas. É de notar a presença de uma fratura de esmalte.

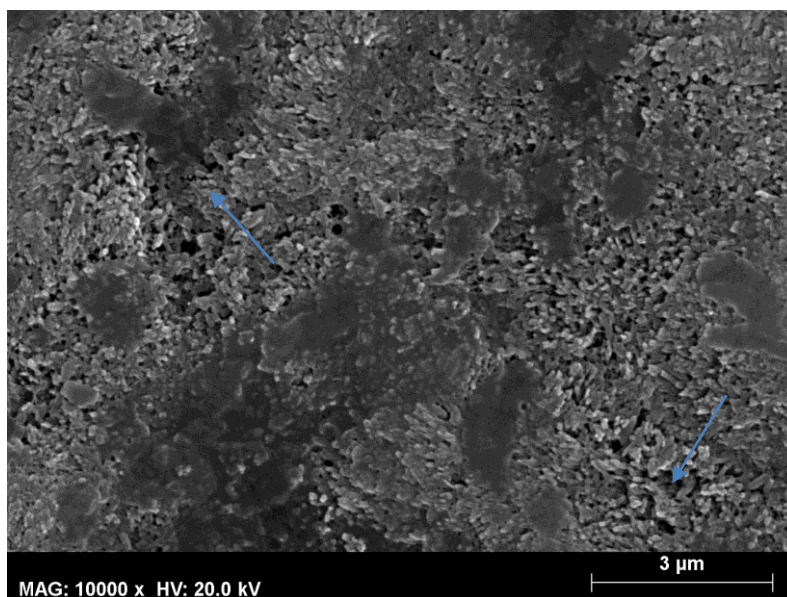


Figura 57-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 10000x. É observada uma desorganização do esmalte (prismas encontram-se em variadas direções) e separação dos prismas com zonas mais heterogêneas.

Grupo A.1

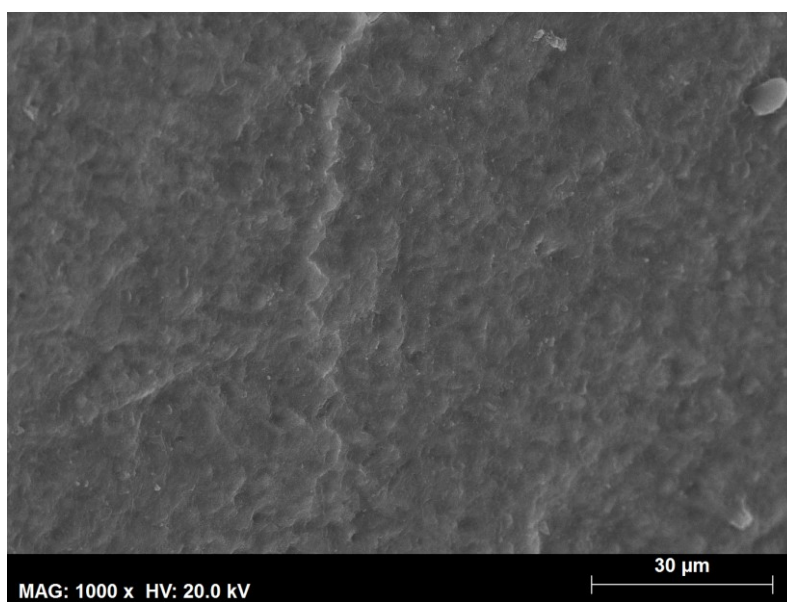


Figura 58-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 1000x. É observada uma camada de fosfato de cálcio, denotando-se uma maior organização da superfície (superfície mais homogênea).

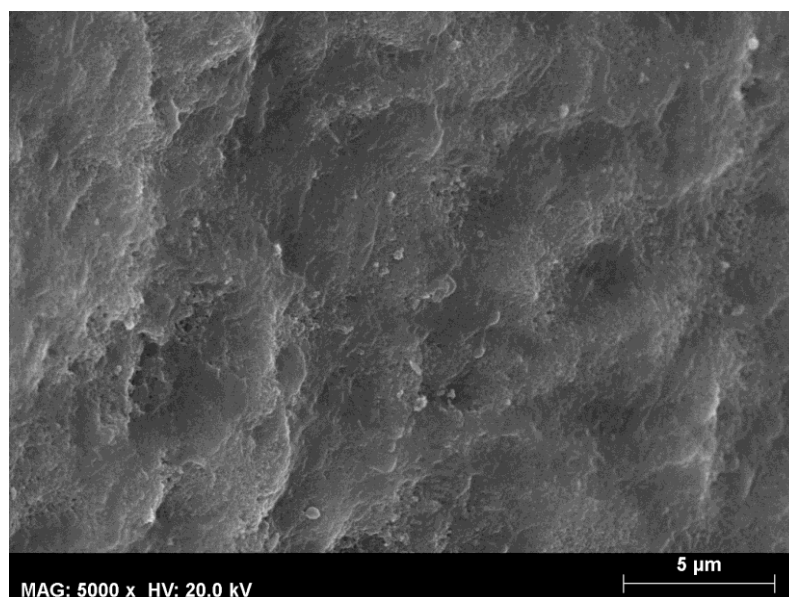


Figura 59-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 5000x. É observada uma camada de fosfato de cálcio, denotando-se uma maior organização da superfície (superfície mais homogênea).



Figura 60-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 10000x. É observada uma camada de fosfato de cálcio, denotando-se uma maior organização da superfície (superfície mais homogênea).

Grupo B

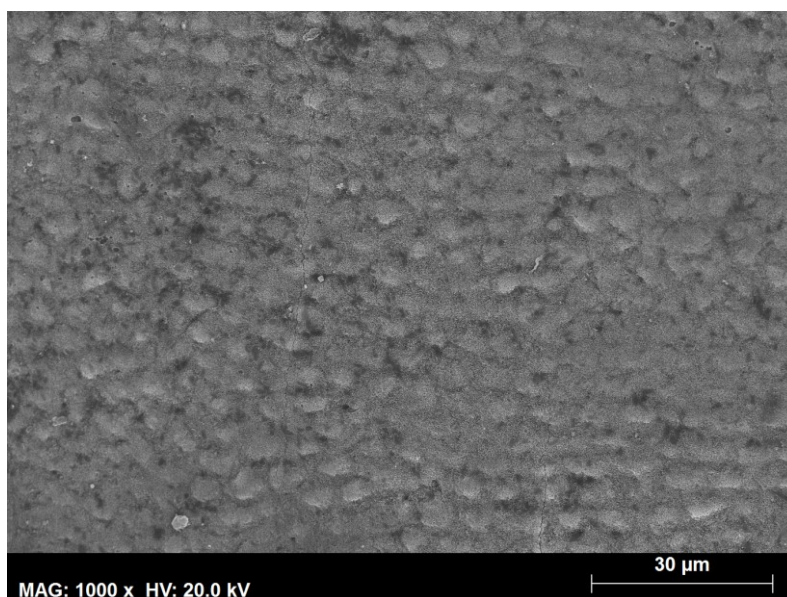


Figura 61-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 1000x. É observada uma superfície um pouco heterogênea com alguma desorganização dos prismas de esmalte.

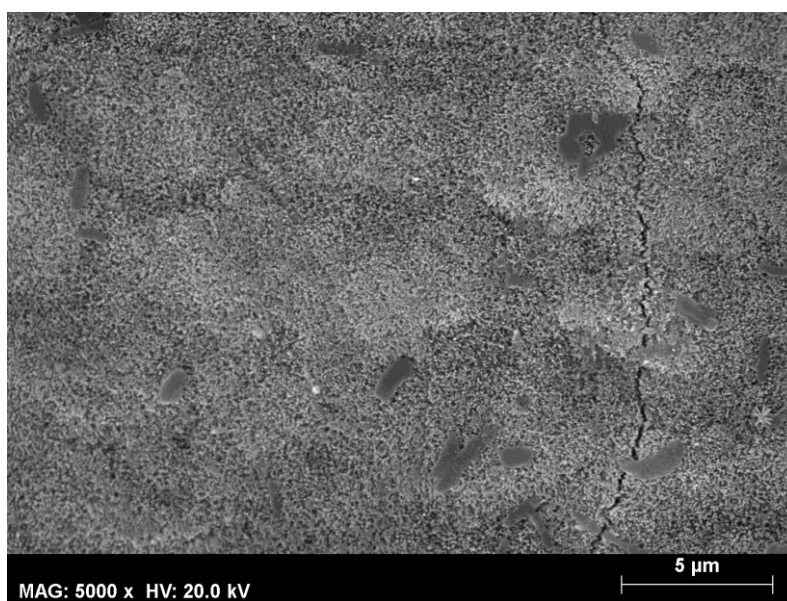


Figura 62-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 5000x. É observada uma superfície um pouco heterogênea com alguma desorganização dos prismas de esmalte.

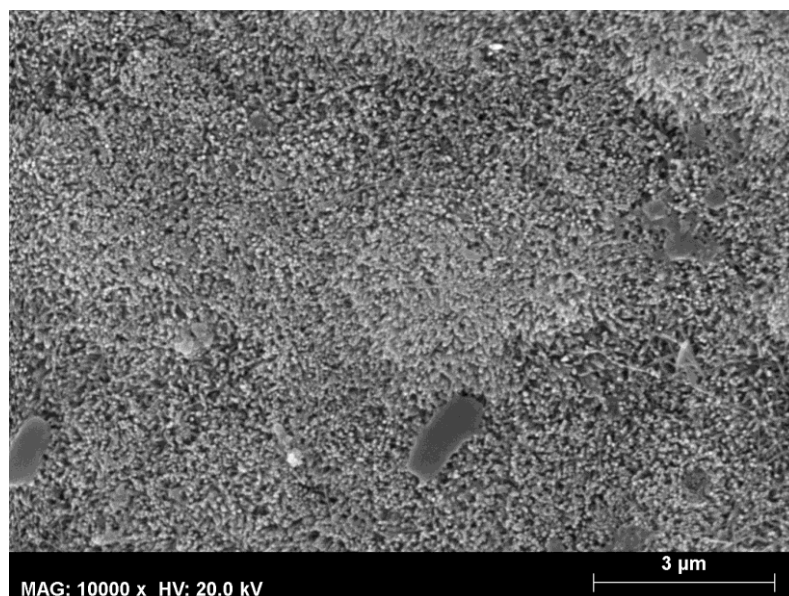


Figura 63-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 10000x. É observada uma superfície um pouco heterogênea com alguma desorganização dos prismas de esmalte.

Grupo B.1

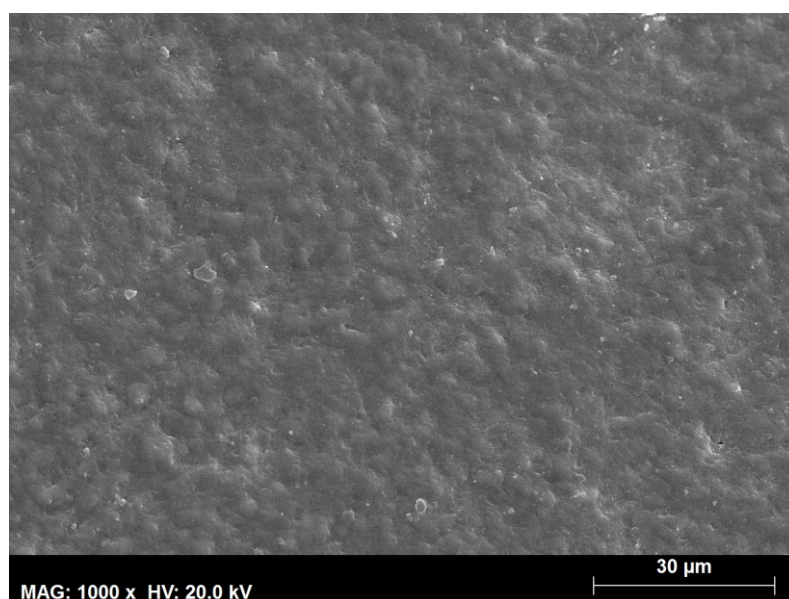


Figura 64-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 1000x. É observada uma camada de fosfato de cálcio, denotando-se uma maior organização da superfície (superfície mais homogênea).

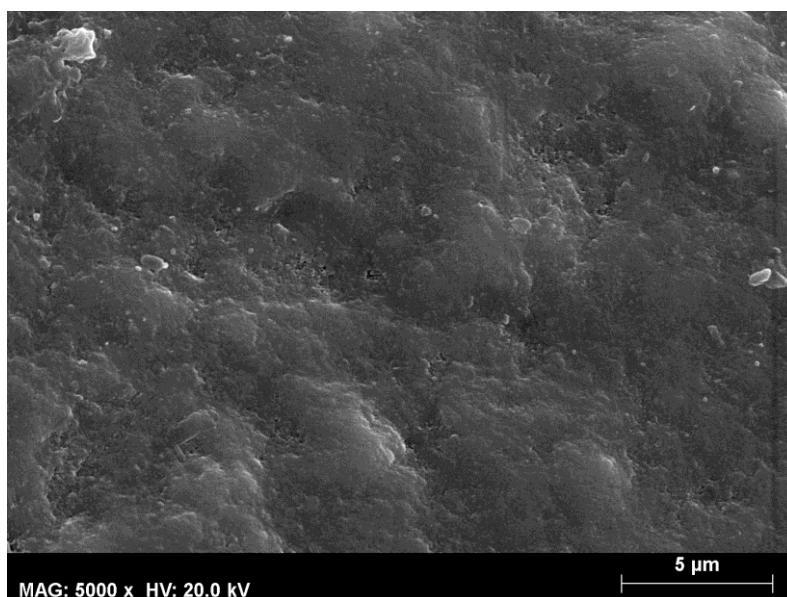


Figura 65-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 5000x. É observada uma camada de fosfato de cálcio, denotando-se uma maior organização da superfície (superfície mais homogênea).

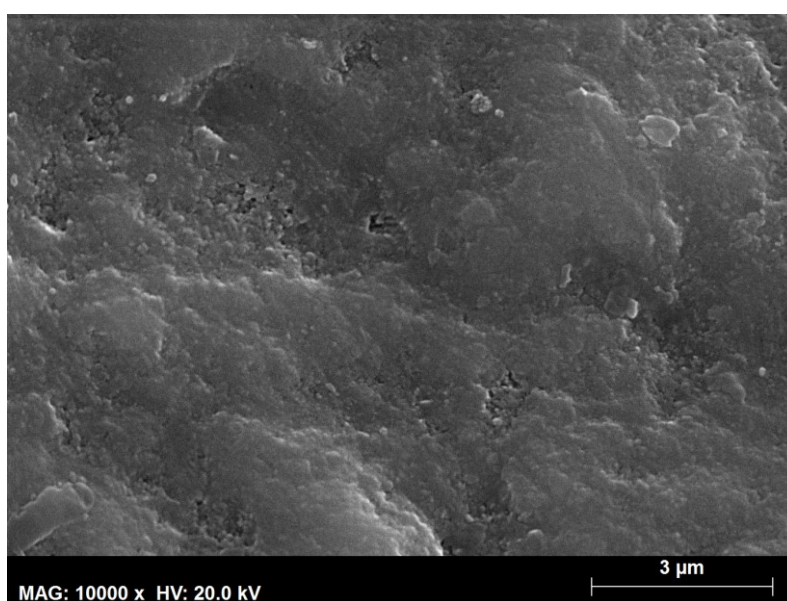


Figura 66-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 10000x. É observada uma camada de fosfato de cálcio, denotando-se uma maior organização da superfície (superfície mais homogênea).

Grupo C

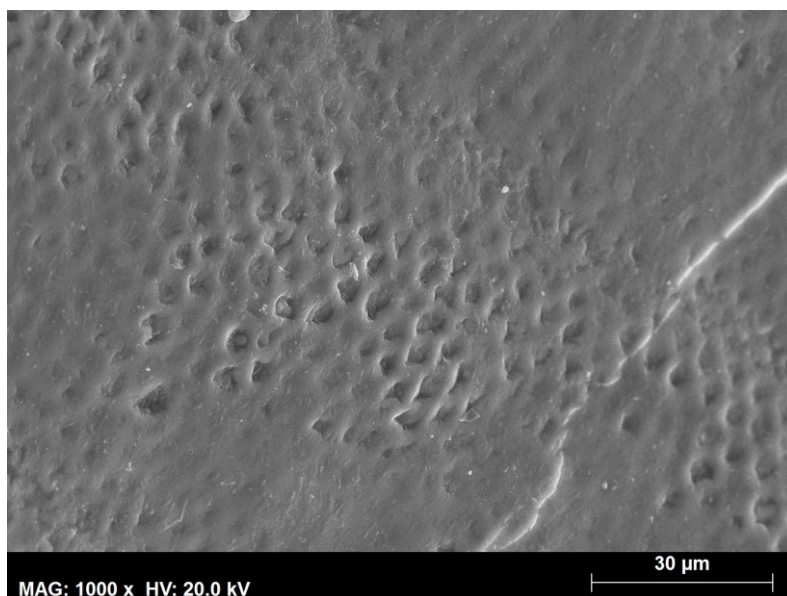


Figura 67-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 1000x. São observadas algumas irregularidades próprias do esmalte são.

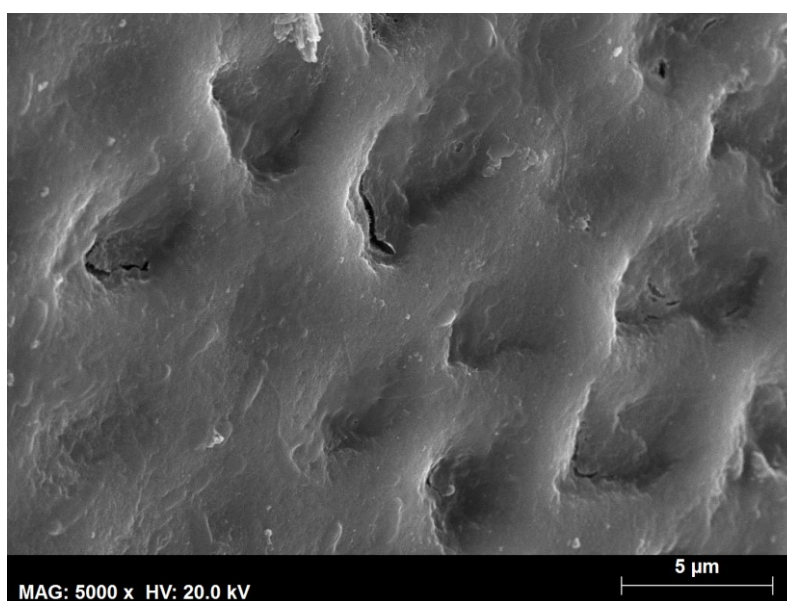


Figura 68-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 5000x. São observadas algumas irregularidades próprias do esmalte são.

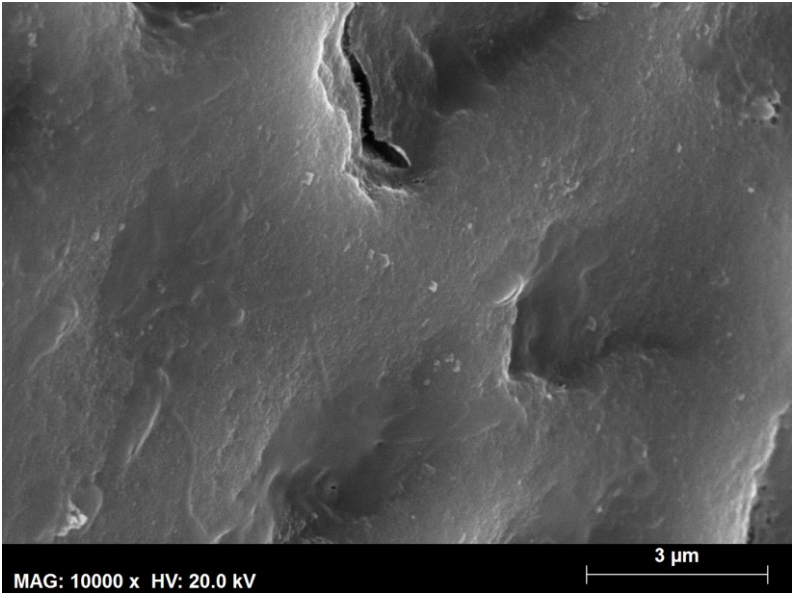


Figura 69-Visão panorâmica sobre a superfície do esmalte a 10000x. São observadas algumas irregularidades próprias do esmalte são.

Grupo A (x1000; x5000; x10000)		
SEM image of Group A at 1000x magnification. The surface appears relatively smooth with some fine texture. Scale bar: 30 µm. Technical data: MAG: 1000 x HV: 20.0 kV.	SEM image of Group A at 5000x magnification. The surface shows more detail with some small pits and ridges. Scale bar: 5 µm. Technical data: MAG: 5000 x HV: 20.0 kV.	SEM image of Group A at 10000x magnification. The surface is highly detailed, showing numerous small features and irregularities. Scale bar: 3 µm. Technical data: MAG: 10000 x HV: 20.0 kV.
Grupo A.1 (x1000; x5000; x10000)		
SEM image of Group A.1 at 1000x magnification. The surface shows some larger-scale irregularities compared to Group A. Scale bar: 30 µm. Technical data: MAG: 1000 x HV: 20.0 kV.	SEM image of Group A.1 at 5000x magnification. The surface shows more pronounced irregularities and larger features. Scale bar: 5 µm. Technical data: MAG: 5000 x HV: 20.0 kV.	SEM image of Group A.1 at 10000x magnification. The surface is highly irregular with many large features and deep pits. Scale bar: 3 µm. Technical data: MAG: 10000 x HV: 20.0 kV.
Grupo B (x1000; x5000; x10000)		

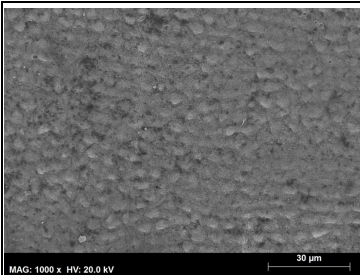
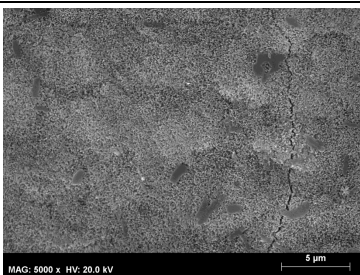
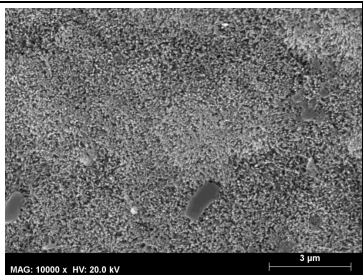
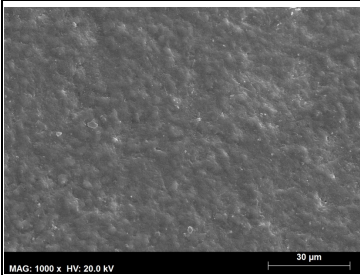
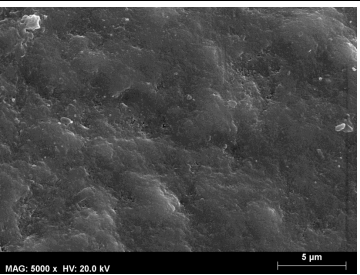
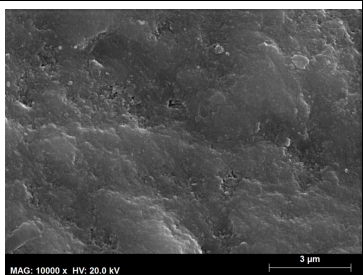
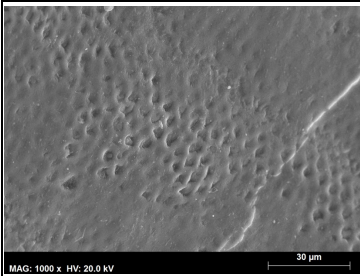
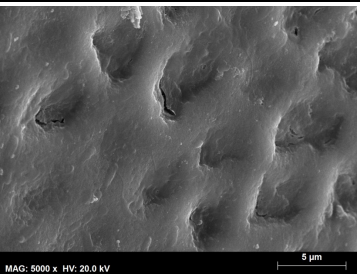
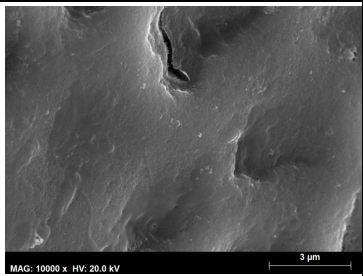
		
Grupo B.1 (x1000; x5000; x10000)		
		
Grupo C (x1000; x5000; x10000)		
		

Tabela 8-Resumo das imagens obtidas em MEV.

DISCUSSÃO

Segundo Zhou et al. (2012), a hidroxiapatite corresponde ao componente do esmalte primordial, sendo um complexo de minerais de fosfato de cálcio cristalino. Deste modo, a hidroxiapatite engloba 95%-97% da composição natural do esmalte (Xin Li et al., 2013). Esta encontra-se organizada numa micro e nanoarquitetura de um complexo tridimensional, o que promove a dureza do esmalte (Chung et al., 2012). É de salientar que a hidroxiapatite é regulada por uma matriz de proteínas (Xin Li et al., 2013).

Segundo Zheng et al. (2011), a desmineralização baseia-se na dissolução da hidroxiapatite na superfície do esmalte, provocando diretamente perda de substância além da diminuição da dureza e módulo de elasticidade da superfície do esmalte. Neste sentido, após a formação dos prismas de esmalte, apenas a hidroxiapatite pode diminuir como consequência de mudanças químicas que se estabelecem na cavidade oral (Roveri et al., 2009). Tal sucede-se, pois o esmalte corresponde a um tecido poroso que permite a difusão de protões acídicos na sua estrutura, fomentando, as reações químicas que progridem na remoção de mineral (Mohammed et al., 2014). Pode ser removido um grande número de iões minerais da hidroxiapatite sem que haja destruição da integridade estrutural (Strnad & Buka, 2014). Segundo (Chung & Huang, 2013), esta desmineralização pode ser causada, por exemplo, por refrigerantes e segundo (Roveri et al., 2009), o consumo de bebidas energéticas têm vindo a ter um enorme crescimento.

A remineralização corresponde à recuperação mineral dos iões de hidroxiapatite (Zheng et al., 2011). Esta uma vez dissolvida não tem capacidade de remineralizar espontaneamente. A remineralização nunca ocorre de forma total e absoluta, ocorrendo uma recuperação em torno dos 25% da dureza superficial inicial (Freyhofer et al., 2010).

Alguns materiais utilizados durante o estudo foram essenciais devido ao seu propósito, o que vai ser justificado em seguida. A água desionizada, tal como referido na Introdução, é um ótimo meio para comparação (visto não possuir qualquer ião desde que não esteja contaminada), permitindo, neste caso e no estudo referido anteriormente, entender a eficácia da saliva artificial (capacidade remineralizadora). Deste modo, a água desionizada funciona como controlo negativo (Ionta et al., 2014). A saliva artificial utilizada não continha flúor na sua composição. Ainda assim, o facto de possuir alguns iões positivos (cálcio, sódio, potássio e fosfato) que atraem o ião flúor (ião negativo) proveniente da pasta dentífrica ou do verniz de flúor, neste caso, tinha o propósito de mostrar que a saliva tinha capacidade remineralizadora. O que ocorre devido à existência de pequenos péptidos, que são a base da fosfoproteína da dentina e que constituem

repetidas sequências tripéptidas aspartato-serina-serina, permite a captura dos iões referidos que se encontram livres na saliva artificial, formando, deste modo, uma nova camada mineral no esmalte que se encontra desmineralizado (Chung et al., 2012). Além disso, e ainda segundo Chung et al., 2012 estas sequências péptidas fruem uma alta afinidade pela hidroxiapatite, promovendo a deposição de fosfato de cálcio mineral. O uso de discos de polimento tinha o propósito de alcançar as superfícies o mais plano e paralelo possível, tendo em conta sempre que teria que estar sempre presente uma superfície de esmalte (Mathews et al., 2011; Tanaka et al., 2013). Já a utilização de agitadores magnéticos a 30rpm e 25°C e de ímanes permitiu simular os movimentos que se dão no interior da cavidade oral aquando da ingestão de líquidos. Neste sentido foi realizada a escovagem bidiária com o intuito de simular a higiene oral de um indivíduo. Por fim, a estufa a 37°C tinha como objetivo mimetizar a temperatura corporal.

Os testes utilizados para avaliação da capacidade remineralizadora do verniz de flúor e da saliva artificial foram os testes de microdureza de Vickers e a microscopia eletrónica de varrimento (MEV). O primeiro é justificável, visto que a microdureza do esmalte é um fator crucial na análise da desmineralização e remineralização do mesmo, segundo Alsayed et al., 2016. Foram realizadas 5 indentações com o intuito de ser obtida uma média dos valores e, desta forma, ser possível uma análise e uma conclusão mais correta. Ainda assim, na superfície de uma amostra é possível encontrar diferentes durezas com valores bastante discrepantes, pelo que a média das 5 indentações poderá não ser totalmente real. No que respeita a MEV, esta é importante, visto que permite a observação panorâmica da superfície do esmalte e, deste modo, através da homogeneidade/heterogeneidade das mesmas entender as diferenças entre grupos.

É de referir que como não é um estudo realizado em indivíduos, alguns fatores físicos relevantes não se encontram presentes e que alterariam alguns dos resultados, como a saliva natural e a película adquirida. A saliva natural, tal como referido, associada à saliva artificial ou ao verniz de flúor poderia auxiliar na remineralização. A saliva possui concentrações de determinados iões que são suficientes para impedir a desmineralização, estando permanentemente em contacto com as superfícies dentárias (Freyhofer, et al., 2010). Já a película adquirida não iria permitir o contacto direto entre o esmalte e o Redbull® dificultando a compreensão do papel do verniz de flúor pelo mesmo motivo. As proteínas existentes na placa influenciam a formação e a estabilidade do fluoreto de cálcio que se forma através da exposição do esmalte ao flúor (Algarni et al., 2015). Deste

modo, níveis baixos de flúor encontrados na saliva inibem a desmineralização e níveis altos presentes na placa promovem a remineralização (Mohammed et al., 2014).

Através das tabelas apresentadas nos resultados, é possível aferir que a média da amostra do esmalte são não difere estatisticamente da média da amostra água, a amostra água+verniz é diferente de todas as outras (superior à água e esmalte são e inferior à saliva e saliva+verniz) e a média da amostra saliva não difere estatisticamente da média da amostra saliva+verniz. Ainda assim, é possível a análise de algumas situações. Apesar da exposição ao Redbull®, o grupo A obteve valor de média de microdureza superior ao esmalte são (+66,51). É de notar também entre os grupos A e A.1, cuja diferença se baseava na utilização de verniz de flúor ao fim de um mês de desmineralização, que o grupo com aplicação desse mesmo verniz (Grupo A.1) ostentou valor de média de microdureza superior (+74,8). O grupo B.1, onde era aplicado o verniz de flúor, apresenta valor de média inferior aquando da comparação com o grupo B (-3,6). Já entre os grupos A e B e os grupos A.1 e B.1, os grupos B e B.1 expuseram valores superiores (+147,53 e +69,13, respetivamente).

No que respeita a primeira situação, apesar do grupo A se encontrar sujeito ao ataque ácido do Redbull® e o grupo são não, os valores apresentaram-se mais elevados provavelmente devido ao facto do grupo A se encontrar também sujeito à escovagem bidiária com uma pasta dentífrica que possui flúor na sua constituição. Segundo (Xiaoke Li et al., 2014), há muito tempo que o flúor é considerado um elemento determinante na proteção do esmalte. Neste sentido, o flúor existente na própria pasta dentífrica permite a inibição da desmineralização, levando a que a presença de iões de flúor na superfície do esmalte sejam primariamente dissolvidos do que a estrutura em si do esmalte, aquando da desmineralização segundo (Strnad & Buka, 2014), o flúor das pastas dentífricas protege o esmalte do ácido e promove a recuperação da dureza após o ataque do mesmo). Deste modo, o flúor presente na pasta poderá promover uma certa remineralização da superfície do esmalte, o que fará aumentar a microdureza do esmalte. Ainda assim, a diferença da média entre as microdurezas é elevada pelo que poder-se-á justificar pelo facto de o grupo de esmalte são apenas ter 2 amostras ao invés do grupo controlo que possui uma média entre 6 amostras. Além disso, nalguma das situações em que ocorreu a escovagem dos fragmentos, estes poderão não ter ficado bem lavados com a água desionizada (não havendo total remoção da pasta), pelo que poderá ter ocorrido alguma contaminação do meio.

Vários estudos indicaram que o flúor diminui as consequências da desmineralização, inibindo esta parcialmente (Tschoppe & Meyer-Lueckel, 2011). Assim, o verniz de flúor não atua como protetor total da erosão, mas sim previne a progressão da mesma (Carvalho et al., 2015). A difusão e penetração do flúor é superior em superfícies porosas do esmalte desmineralizado, dado que a porosidade oferece uma maior retenção ao flúor (T. Attin et al., 2005). Os vernizes de flúor são bastante eficazes especialmente em lesões erosivas severas (Carvalho et al., 2015). Tal verifica-se, pois aquando de um novo ataque erosivo, a camada a ser dissolvida é a de flúor, sendo importante a formação de fluoreto de cálcio suficiente no esmalte e de flúor adsorvido nos cristais (T. Attin et al., 2005). A própria pasta dentífrica induz esta situação (Xiaoke Li et al., 2014). Apenas o verniz de flúor ou a pasta dentífrica não possibilita só por si o progresso da remineralização. O uso concomitante dos dois torna-se, então, bastante relevante (Jardim et al., 2008). Quanto aos mecanismos de incorporação do flúor, os de acreção, adsorção e troca heteroiónica permitem essencialmente o aumento da resistência à desmineralização e os de recristalização e precipitação a remineralização (Freyhofer et al., 2010). Assim, associando a pasta dentífrica e níveis de flúor mais baixos (inibem a desmineralização) e o verniz de flúor a níveis mais elevados (potenciam a remineralização), é notória a associação entre a pasta dentífrica e o primeiro grupo de mecanismos referido e o verniz de flúor e o segundo grupo. Quanto à aplicação do verniz de flúor, é de ter em conta que a concentração de flúor aumenta nas primeiras 12h e pode aumentar até às 32h seguintes (Thomas Attin et al., 2007). Esta ainda assim, não se encontra com um protocolo bem estabelecido (Lenzi et al., 2016). Segundo (Lenzi et al., 2016), alguns autores aconselham aplicações diárias ou 4 a 8 aplicações semanalmente ou bissemanalmente, outros 4 aplicações semanalmente ou 3 aplicações trimestralmente e segundo (Sar Sancakli et al., 2015), uma só aplicação é eficaz.

Na comparação entre os grupos A e A.1, de acordo com o referido já seria um resultado previsto, pois já num estudo referido anteriormente apenas uma aplicação do verniz de flúor fez diferença ao nível da remineralização do esmalte. É assim perceptível que entre um grupo onde foi utilizado verniz de flúor (grupo A.1) e um grupo onde não foi utilizado há uma diferença significativa no que respeita à microdureza média. Quer isto dizer, que o verniz de flúor, respeitando o seu protocolo de aplicação, permite uma notória remineralização do esmalte erodido. Também tal situação é verificada, visto que a associação de uma pasta dentífrica fluoretada com uma aplicação profissional de flúor aumenta a probabilidade de remineralização e, conseqüente, aumento da microdureza.

Tal facto é apurável se compararmos as diferenças de valores entre a primeira situação e esta.

Já menos aguardado, foi o resultado obtido entre os grupos B e B.1 que, na sequência do referido anteriormente, parecem refutar a ideia de remineralização do verniz de flúor. No entanto, através da bibliografia revista, é possível entender que o verniz de flúor é bastante eficaz na associação com uma pasta dentífrica fluoretada. Além disso, o facto de estarmos perante grupos cujo meio é a saliva artificial, permitiria uma maior remineralização com a presença do verniz de flúor, visto que a combinação entre ambos é melhor. Isto justifica-se, pois esta saliva artificial possui os iões necessários à captação de flúor proveniente tanto da pasta como do verniz (cálcio, sódio, potássio e fosfato), o que permite a formação de sais/cristais associados à remineralização (por exemplo fluoreto de cálcio), segundo Dias, 2006. Deste modo, erros poderão ter ocorrido ao nível da aplicação do protocolo do verniz de flúor ou ao nível da má lavagem dos fragmentos aquando da escovagem.

Num estudo, foi mostrado que todas as formulações usadas de saliva artificial promoveram a remineralização do esmalte (Ionta et al., 2014). Noutro estudo, foi mostrado que a dureza das superfícies erodidas aumentou passadas 12h de estarem em contacto com a saliva artificial (Zheng et al., 2011). É importante também referir que segundo (Chung et al., 2012), os péptidos, que são base da fosfoproteína da dentina, permitem a captura de iões de cálcio e fosfato que se encontram na saliva artificial, permitindo a formação de uma camada de mineral no esmalte desmineralizado. Assim, estes promovem a deposição de fosfato de cálcio, favorecendo a remineralização do esmalte.

Entre os grupos A e B e os grupos A.1 e B.1, a diferença subsistia na presença ou não de saliva artificial. Nos grupos B e B.1, onde o meio era saliva artificial, os valores foram substancialmente maiores comparativamente aos grupos onde o meio era água desionizada (grupos A e A.1). Desta forma, foi notório que a saliva artificial permite uma franca remineralização do esmalte erodido, possibilitando um aumento da microdureza do mesmo. Segundo (Zheng et al., 2011), a saliva artificial apenas consegue atuar na erosão inicial. Isto permite inferir que pelo facto da saliva artificial se encontrar presente desde o início da desmineralização nos grupos A.1 e B.1, havia imediatamente um processo de remineralização, impedindo a ação do Redbull®. Tal acontece devido ao já descrito anteriormente. Ainda assim, a diferença entre os grupos poderia ter sido maior, caso não tivesse ocorrido algum erro, já mencionado anteriormente. Segundo (Tschoppe

& Meyer-Lueckel, 2011), a remineralização dá-se preferencialmente através da associação de saliva artificial e da aplicação tópica de flúor.

Também nas imagens obtidas através da microscopia eletrónica de varrimento, foi perceptível a diferença entre o uso de saliva artificial e de verniz de flúor, sendo que com a utilização de destes a superfície do esmalte encontrava-se mais organizada e homogénea, tal como referido nos Resultados.

Os resultados apresentados podem também ser justificados, pois segundo (Mohammed et al., 2014), baixas concentrações de flúor são relevantes na prevenção e, portanto, na redução da desmineralização, e altas concentrações são cruciais aquando do início da dissolução do esmalte, isto é, ao nível da remineralização. Deste modo, é justificável o papel e a diferença entre grupos apontados das pastas dentífricas com flúor (baixas concentrações) e do verniz de flúor (altas concentrações).

CONCLUSÕES

Através do estudo apresentado, conclui-se que tanto o poder remineralizador da saliva artificial como do verniz de flúor é bastante elevado, mostrando também que permitem um aumento significativo da microdureza de Vickers aquando da comparação com outros grupos. Deste modo, existem tanto diferenças significativas na microdureza de superfície da amostra como diferenças microscópicas qualitativas, quando se aplica uma pasta dentífrica à base de vidro bioativo, combinada com um tratamento de verniz de flúor, nos grupos de estudo. Foi, assim, perceptível que os resultados obtidos através dos testes de microdureza de Vickers e da Microscopia Eletrónica de Varrimento encontram-se em concordância.

Por outro lado, é possível denotar que os testes de microdureza de Vickers são essenciais na avaliação da desmineralização e remineralização das amostras.

BIBLIOGRAFIA

- Algarni, A. A., Mussi, M. C. M., Moffa, E. B., Lippert, F., Zero, D. T., Siqueira, W. L., & Hara, A. T. (2015). The impact of stannous, fluoride ions and its combination on enamel pellicle proteome and dental erosion prevention. *PLoS ONE*, *10*(6), 1–11. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0128196>
- Ali Shad, S. & Kanwal, H. (2013). Intensity of dental erosion in age groups. *Pakistan Oral and Dental Journal*, *33*(1), 131–136.
- Al-Majed, I., Maguire, A., & Murray, J. J. (2002). Risk factors for dental erosion in 5-6 year old and 12-14 year old boys in Saudi Arabia. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, *30*(7), 38–46. <http://doi.org/DOI 10.1034/j.1600-0528.2002.300106.x>
- Al-Malik, M. I., Holt, R. D., & Bedi, R. (2001). The relationship between erosion, caries and rampant caries and dietary habits in preschool children in Saudi Arabia. *International Journal of Paediatric Dentistry*, *11*(6), 430–439. <http://doi.org/10.1046/j.0960-7439>
- Al-Malik, M. I., Holt, R. D., Bedi, R., & Speight, P. M. (2001). Investigation of an index to measure tooth wear in primary teeth. *Journal of Dentistry*, *29*(2), 103–107. [http://doi.org/10.1016/S0300-5712\(00\)00064-6](http://doi.org/10.1016/S0300-5712(00)00064-6)
- Alsayed, E. Z., Hariri, I., Nakashima, S., Shimada, Y., Bakhsh, T. A., Tagami, J., & Sadr, A. (2016). Effects of coating materials on nanoindentation hardness of enamel and adjacent areas. *Dental Materials*, *32*(6), 807–816. <http://doi.org/10.1016/j.dental.2016.03.023>
- Attin, T., Grieme, R., Paqué, F., Hannig, C., Buchalla, W., & Attin, R. (2005). Enamel fluoride uptake of a novel water-based fluoride varnish. *Archives of Oral Biology*, *50*(3), 317–322. <http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2004.09.003>
- Attin, T., Lennon, A. M., Yakin, M., Becker, K., Buchalla, W., Attin, R., & Wiegand, A. (2007). Deposition of fluoride on enamel surfaces released from varnishes is limited to vicinity of fluoridation site. *Clinical Oral Investigations*, *11*(1), 83–88. <http://doi.org/10.1007/s00784-006-0080-1>
- Austin, R. S., Giusca, C. L., Macaulay, G., Moazzez, R., & Bartlett, D. W. (2016). Confocal laser scanning microscopy and area-scale analysis used to quantify enamel surface textural changes from citric acid demineralization and salivary remineralization in vitro. *Dental Materials*, *32*(2), 278–284. <http://doi.org/10.1016/j.dental.2015.11.016>

- Austin, R. S., Stenhagen, K. S., Hove, L. H., Dunne, S., Moazzez, R., Bartlett, D. W., & Tveit, A. B. (2011). A qualitative and quantitative investigation into the effect of fluoride formulations on enamel erosion and erosion-abrasion in vitro. *Journal of Dentistry*, 39(10), 648–655. <http://doi.org/10.1016/j.jdent.2011.07.006>
- Bardsley, P. F. (2008). The evolution of tooth wear indices. *Clinical Oral Investigations*, 12(SUPPL.1), 15–19. <http://doi.org/10.1007/s00784-007-0184-2>
- Bartlett, D., Ganss, C., & Lussi, A. (2008). Basic Erosive Wear Examination (BEWE): a new scoring system for scientific and clinical needs, 12, 65–68. <http://doi.org/10.1007/s00784-007-0181-5>
- Beyer, M., Reichert, J., Sigusch, B. W., Watts, D. C., & Jandt, K. D. (2012). Morphology and structure of polymer layers protecting dental enamel against erosion. *Dental Materials*, 28(10), 1089–1097. <http://doi.org/10.1016/j.dental.2012.07.003>
- Caneppele, T. M. F., Jeronymo, R. D. I., Di Nicoló, R., de Araújo, M. A. M., & Soares, L. E. S. (2012). In vitro assessment of dentin erosion after immersion in acidic beverages: Surface profile analysis and energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry study. *Brazilian Dental Journal*, 23(4), 373–378. <http://doi.org/10.1590/S0103-64402012000400011>
- Carvalho, T. S., Bönecker, M., Altenburger, M. J., Buzalaf, M. A. R., Sampaio, F. C., & Lussi, A. (2015). Fluoride varnishes containing calcium glycerophosphate: fluoride uptake and the effect on in vitro enamel erosion. *Clinical Oral Investigations*, 19(6), 1429–1436. <http://doi.org/10.1007/s00784-014-1363-6>
- Chung, H. Y., & Huang, K. C. (2013). Effects of peptide concentration on remineralization of eroded enamel. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 28, 213–221. <http://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2013.08.004>
- Chung, H. Y., Li, C. C., & Hsu, C. C. (2012). Characterization of the effects of 3DSS peptide on remineralized enamel in artificial saliva. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 6, 74–79. <http://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.10.008>
- Dias, A. A. (2006). *Saúde Bucal Coletiva - Metodologia de Trabalho e Práticas*. (L. Santos, Ed.) (1ª ed.).
- Do Amaral, J. G., Delbem, A. C. B., Pessan, J. P., Manarelli, M. M., & Barbour, M. E. (2016). Effects of polyphosphates and fluoride on hydroxyapatite dissolution: A pH-stat investigation. *Archives of Oral Biology*, 63, 40–46.

- <http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.11.023>
- Dundar, A., & Sengun, A. (2014). Dental approach to erosive tooth wear in gastroesophageal reflux disease. *African Health Sciences*, 14(2), 481–486. <http://doi.org/10.4314/ahs.v14i2.28>
- Duraisamy, V., Xavier, A., Nayak, U. A., Reddy, V., & Rao, A. P. (2015). An in vitro evaluation of the demineralization inhibitory effect of F(-) varnish and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on enamel in young permanent teeth. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 7(Suppl 2), S513–7. <http://doi.org/10.4103/0975-7406.163521>
- Eccles, J. D. (1979). Dental erosion of nonindustrial origin. A clinical survey and classification. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 42(6), 649–653.
- Ferreira, J. M. S., Aragão, A. K. R., Rosa, A. D. B., Sampaio, F. C., & Menezes, V. A. De. (2009). Therapeutic effect of two fluoride varnishes on white spot lesions: a randomized clinical trial. *Brazilian Oral Research*, 23(4), 446–451.
- Freyhofer, Vicente Aránguiz García, Pilar Baca Emilson, Claes-Göran Fredes, Olaya Fernández Soler, Santiago Gómez Traub, Rodrigo Mariño Biermann, Stefania Martignon Calvo, Juan Eduardo Onetto Espinoza, Sergio Uribe Litovsky, Alberto Villa López, I. Y. (2010). *Fluorterapia en Odontología-Fundamentos y Aplicaciones Clínicas*. (S. G. Soler, Ed.) (4^a ed.).
- Ganss, C., Lussi, A. & Schlueter, N. (2014). The histological features and physical properties of eroded dental hard tissues. In Erosive Tooth Wear. *Monographs in Oral Science*, Karger, 25, 99–107.
- Ganss, C., & Lussi, A. (2008). Current erosion indices—flawed or valid? *Clinical Oral Investigations*, 12(S1), 1–3. <http://doi.org/10.1007/s00784-007-0182-4>
- Habitante, S. M., Frederico, C., Dollinger, D. A. Von, & Forghieri, A. A. (2014). Vickers Hardness Laboratory Analysis Surface of Artificial, 26(1), 23–37.
- Helena, B., Schmitt, E., & Araújo, S. M. De. (2013). Dental Em Crianças, 187–198.
- Imfeld, T. (1996). *Dental erosion. Definition, classification and links*. *European Journal of Oral Sciences* (Vol. 104(2)). Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8804882>
- Ionta, F. Q., Mendonça, F. L., De Oliveira, G. C., De Alencar, C. R. B., Honório, H. M., Magalhães, A. C., & Rios, D. (2014). In vitro assessment of artificial saliva formulations on initial enamel erosion remineralization. *Journal of Dentistry*, 42(2), 175–179. <http://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.11.009>

- Jardim, J. J., Pagot, M. A., & Maltz, M. (2008). Artificial enamel dental caries treated with different topical fluoride regimes: An in situ study. *Journal of Dentistry*, 36(6), 396–401. <http://doi.org/10.1016/j.jdent.2008.02.010>
- Jayaranjan, J., Janardhanam, P., Jayakumar, P. (2011). Efficacy of CPP-ACP and CPP-ACPF on enamel remineralization - An in vitro study using scanning electron microscope and DIAGNOdent®. *Indian Journal of Dental Research: Official Publication of Indian Society for Dental Research*.
- Johansson, A. K., Omar, R., Carlsson, G. E., & Johansson, A. (2012). Dental erosion and its growing importance in clinical practice: from past to present. *Int J Dent*, 2012, 632907. <http://doi.org/10.1155/2012/632907>
- Kazoullis, S., Seow, W. K., Holcombe, T., Newman, B. & Ford, D. (2007). Common dental conditions associated with dental erosion in schoolchildren in Australia. *Pediatric Dentistry*, 29(1), 33–39. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18041510>
- Larsen, I. B., Westergaard, J., Stoltze, K., Larsen, a I., Gyntelberg, F., & Holmstrup, P. (2000). A clinical index for evaluating and monitoring dental erosion. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 28(3), 211–7. <http://doi.org/10.1034/j.1600-0528.2000.280307.x>
- Lee, Y. E., Baek, H. J., Choi, Y. H., Jeong, S. H., Park, Y. D., & Song, K. B. (2010). Comparison of remineralization effect of three topical fluoride regimens on enamel initial carious lesions. *Journal of Dentistry*, 38(2), 166–171. <http://doi.org/10.1016/j.jdent.2009.10.002>
- Lenzi, T. L., Montagner, A. F., Soares, F. Z. M., & De Oliveira Rocha, R. (2016). Are topical fluorides effective for treating incipient carious lesions? A systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Dental Association*, 147(2), 84–91. <http://doi.org/10.1016/j.adaj.2015.06.018>
- Li, X., Pan, D., Lin, S., Zhuang, Z., & Lin, Z. (2013). Facile in vitro hydroxyapatite remineralization of human enamel with remarkable hardness. *CrystEngComm*, 15(21), 4351. <http://doi.org/10.1039/c3ce26947g>
- Li, X., Wang, J., Joiner, A., & Chang, J. (2014). The remineralisation of enamel: A review of the literature. *Journal of Dentistry*, 42, S12–S20. [http://doi.org/10.1016/S0300-5712\(14\)50003-6](http://doi.org/10.1016/S0300-5712(14)50003-6)
- Luo, Y., Zeng, X. J., Du, M. Q., & Bedi, R. (2005). The prevalence of dental erosion in preschool children in China. *Journal of Dentistry*, 33(2), 115–121.

- <http://doi.org/10.1016/j.jdent.2004.08.007>
- Lussi, Adrian & Jaeggi, T. (2006). Dental erosion in children. *Monographs in Oral Science*, 20(3), 140–151. Retrieved from m
- Lussi, A., & Jaeggi, T. (2008). Erosion - Diagnosis and risk factors. *Clinical Oral Investigations*, 12(SUPPL.1), 5–13. <http://doi.org/10.1007/s00784-007-0179-z>
- Lussi, A., Schaffner, M., & Jaeggi, T. (2007). Dental erosion – diagnosis and prevention in children and adults *. *International Dental Journal*, 57, 385–398. <http://doi.org/10.1111/j.1875-595X.2007.tb00166.x>
- MAGALHÃES, A. C., WIEGAND, A., RIOS, D., HONÓRIO, H. M., & BUZALAF, M. A. R. (2009). Insights Into Preventive Measures for Dental Erosion. *Journal of Applied Oral Science*, 17(2), 75–86. <http://doi.org/10.1590/S1678-77572009000200002>
- Manaf, Z. A., Lee, M. T., Ali, N. H. M., Samynathan, S., Jie, Y. P., Ismail, N. H. & W., & Seng, Y. (2012). Relationship between food habits and tooth erosion occurrence in Malaysian university students. *The Malaysian Journal of Medical Sciences*, 19(2), 56–66. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3431744&tool=pmcent>
- Margaritis, V. & Nunn, J. (2014). Challenges in Assessing Erosive Tooth Wear, 25, 46–54.
- Mathews, M. S., Amaechi, B. T., Ramalingam, K., Ccahuana-vasquez, R. A., Chedjieu, I. P., Mackey, A. C., & Karlinsey, R. L. (2011). In situ remineralisation of eroded enamel lesions by NaF rinses. *Archives of Oral Biology*, 57(5), 525–530. <http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.10.010>
- McGuire, J., Szabo, A., Jackson, S., Bradley, T. G., & Okunseri, C. (2009). Erosive tooth wear among children in the United States: Relationship to race/ethnicity and obesity. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 19(2), 91–98. <http://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2008.00952.x>
- Mesko, M. E., Skupien, J. A., & Pereira-Cenci, T. (2014). Acid Foods and Soft Drinks Dental Erosive Potential: Warning Messages or Not? *Int. J. Odontostomatol. (Print)*, 8 (1), 59–62. <http://doi.org/10.4067/s0718-381x2014000100007>
- Millward, A., Shaw, L. & Smith, A. (1994). Dental erosion in four-year-old children from differing socioeconomic backgrounds. *American Society of Dentistry for Children - Journal of Dentistry for Children*, 61(4), 263–266. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7989629>

- Mohammed, N. R., Lynch, R. J. M., & Anderson, P. (2014). Effects of fluoride concentration on enamel demineralization kinetics in vitro. *Journal of Dentistry*, 42(5), 613–618. <http://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.12.005>
- Mohanty, P. (2014). An in Vitro Evaluation of Remineralization Potential of Novamin® on Artificial Enamel Sub-Surface Lesions Around Orthodontic Brackets Using Energy Dispersive X-Ray Analysis (EDX). *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8 (11), 88–91.
- Murakami, C., Oliveira, L. B., Sheiham, A., Nahás Pires Corrêa, M. S., Haddad, A. E., & Bönecker, M. (2011). Risk indicators for erosive tooth wear in Brazilian Preschool Children. *Caries Research*, 45(2), 121–129. <http://doi.org/10.1159/000324807>
- Nguyen, S., Hiorth, M., Rykke, M., & Smistad, G. (2013). Polymer coated liposomes for dental drug delivery - Interactions with parotid saliva and dental enamel. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(1), 78–85. <http://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.03.004>
- Nunn, J. H., Gordon, P. H., Morris, A. J., Pine, C. M., & Walker, A. (2003). Dental erosion - Changing prevalence? A review of British national childrens' surveys. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 13(2), 98–105. <http://doi.org/10.1046/j.1365-263X.2003.00433.x>
- Perrini, F., Lombardo, L., Arreghini, A., Medori, S., & Siciliani, G. (2016). Caries prevention during orthodontic treatment: In-vivo assessment of high-fluoride varnish to prevent white spot lesions. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 149(2), 238–243. <http://doi.org/10.1016/j.ajodo.2015.07.039>
- Picos, A., Chisnoiu, A. & Dumitracu, D. (2013). Dental Erosion in Patients with Gastroesophageal Disease, 22(3), 303–307. Retrieved from <http://doi.org/10.1159/000360712>
- Picos, A. M., Poenar, S., Opris, A., Chira, A., Bud, M., Berar, A., ... Dumitrascu, D. L. (2014). Prevalence Of Dental Erosions In Gerd: A Pilot Study. *Chujul Medical*, 86(4), 344–346.
- Roveri, N., Battistella, E., Bianchi, C. L., Foltran, I., Foresti, E., Iafisco, M., ... Rimondini, L. (2009). Surface enamel remineralization: Biomimetic apatite nanocrystals and fluoride ions different effects. *Journal of Nanomaterials*, 2009. <http://doi.org/10.1155/2009/746383>

- Salas, M. M. S., Nascimento, G. G., Huysmans, M. C., & Demarco, F. F. (2014). Estimated prevalence of erosive tooth wear in permanent teeth of children and adolescents: An epidemiological systematic review and metaregression analysis. *Journal of Dentistry*, 43 (2015), 42–50. Retrieved from www.intl.elsevierhealth.com/journals/jden
- Sar Sancakli, H., Austin, R., Al-Saqabi, F., Moazzez, R., & Bartlett, D. (2015). The influence of varnish and high fluoride on erosion and abrasion in a laboratory investigation. *Australian Dental Journal*, 60(1), 38–42. <http://doi.org/10.1111/adj.12271>
- Schlueter, N., Jaeggi, T., & Lussi, A. (2012). Is Dental Erosion Really a Problem? *Advances in Dental Research*, 24(2), 68–71. <http://doi.org/10.1177/0022034512449836>
- Specification, T. (2012). Specification Iso / Ts, 2012.
- Strnad, G., & Buka, I. (2014). Effect of Acid Erosion Followed by Remineralization Process on Microhardness of Dental Enamel. *Procedia Technology*, 12, 308–315. <http://doi.org/10.1016/j.protcy.2013.12.491>
- Taji, S., & Seow, W. K. (2010). A literature review of dental erosion in children. *Australian Dental Journal*, 55(4), 358–367. <http://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2010.01255.x>
- Tanaka, T., Kobayashi, T., Takii, H., Kamasaka, H., Ohta, N., Matsuo, T., ... Kuriki, T. (2013). Optimization of calcium concentration of saliva with phosphoryl oligosaccharides of calcium (POs-Ca) for enamel remineralization in vitro. *Archives of Oral Biology*, 58(2), 174–180. <http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.07.004>
- Tschoppe, P., & Meyer-Lueckel, H. (2011). Mineral distribution of artificial dentinal caries lesions after treatment with fluoride agents in combination with saliva substitutes. *Archives of Oral Biology*, 56(8), 775–784. <http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.01.002>
- Uhlen, M. M., Mulic, A., Holme, B., Tveit, A. B., & Stenhagen, K. R. (2016). The Susceptibility to Dental Erosion Differs among Individuals. *Caries Research*, 117–123. <http://doi.org/10.1159/000444400>
- Urban, V. M., Machado, A. L., Vergani, C. E., Giampaolo, E. T., Pavarina, A. C., de Almeida, F. G., & Cass, Q. B. (2009). Effect of water-bath post-polymerization on

- the mechanical properties, degree of conversion, and leaching of residual compounds of hard chairside reline resins. *Dental Materials*, 25(5), 662–671. <http://doi.org/10.1016/j.dental.2008.10.017>
- Varga, G., Kerémi, B., Bori, E. & Földes, A. (2015). Function and repair of dental enamel – Potential role of epithelial transport processes of ameloblasts. *Pancreatology*, 15(4), S55–S60. Retrieved from <http://doi.org/10.1016/j.pan.2015.01.012>
- Wang, X., Mihailova, B., Klocke, A., Heidrich, S., & Bismayer, U. (2011). Effect of artificial saliva on the apatite structure of eroded enamel. *Int J Spectroscopy*, 2011, doi:10.1155/2011/236496. <http://doi.org/10.1155/2011/236496>
- Wang, Y. L., Chang, C. C., Chi, C. W., Chang, H. H., Chiang, Y. C., Chuang, Y. C., ... Lin, C. P. (2014). Erosive potential of soft drinks on human enamel: An invitro study. *Journal of the Formosan Medical Association*, 113(11), 850–856. <http://doi.org/10.1016/j.jfma.2014.06.002>
- Waterhouse, P. J., Auad, S. M., Nunn, J. H., Steen, I. N., & Moynihan, P. J. (2008). Diet and dental erosion in young people in south-east Brazil. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 18(5), 353–360. <http://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2008.00919.x>
- West, N. X., & Joiner, A. (2014). Enamel mineral loss. *Journal of Dentistry*, 42, S2–S11. [http://doi.org/10.1016/S0300-5712\(14\)50002-4](http://doi.org/10.1016/S0300-5712(14)50002-4)
- Xiang, C., Ran, J., Yang, Q., Li, W., Zhou, X., & Zhang, L. (2013). Effects of enamel matrix derivative on remineralisation of initial enamel carious lesions in vitro. *Archives of Oral Biology*, 58(4), 362–369. <http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.09.013>
- Young, A., Amaechi, B. T., Dugmore, C., Holbrook, P., Nunn, J., Schiffner, U., ... Ganss, C. (2008). Current erosion indices - Flawed or valid? Summary. *Clinical Oral Investigations*, 12(SUPPL.1), 59–63. <http://doi.org/10.1007/s00784-007-0180-6>
- Zaytsev, D. (2016). Mechanical properties of human enamel under compression: On the feature of calculations. *Materials Science and Engineering: C*, 62, 518–523. <http://doi.org/10.1016/j.msec.2016.02.016>
- Zaytsev, D., & Panfilov, P. (2015). Anisotropy of the mechanical properties of human dental enamel. *Materials Letters*, 159, 428–431. <http://doi.org/10.1016/j.matlet.2015.07.057>

- Zheng, L., Zheng, J., Weng, L. Q., Qian, L. M., & Zhou, Z. R. (2011). Effect of remineralization on the nanomechanical properties and microtribological behaviour of acid-eroded human tooth enamel. *Wear*, 271(9-10), 2297–2304.
<http://doi.org/10.1016/j.wear.2010.11.025>
- Zhou, S. L., Zhou, J., Watanabe, S., Watanabe, K., Wen, L. Y., & Xuan, K. (2012). In vitro study of the effects of fluoride-releasing dental materials on remineralization in an enamel erosion model. *Journal of Dentistry*, 40(3), 255–263.
<http://doi.org/10.1016/j.jdent.2011.12.016>
- Zini, A., Krivoroutski, Y., & Vered, Y. (2014). Primary prevention of dental erosion by calcium and fluoride: A systematic review. *International Journal of Dental Hygiene*, 12(1), 17–24. <http://doi.org/10.1111/idh.12049>